COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB7

4

Harvard Medical School

Bowditch Library

Purchased

Harvard Medical Library
in the Francis A. Countway
Library of Medicine ~ Boston

VERITATEM PER MEDICINAM QUÆRAMUS

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/naunyn-schmiedebergs-archives-of-pharmacology_1940_196

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS
ARCHIV
FÜR
EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE
UND
PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG VON FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. KREHL † UND DR. W. STRAUB
EMER. PROF. DER SPEZIELLEN PATHOLOGIE UND THERAPIE IN HEIDELBERG
PROF. DER PHARMAKOLOGIE IN MÜNCHEN

196. BAND

MIT 192 TEXTABBILDUNGEN (248 EINZELBILDERN)

BERLIN
VERLAG VON F. C. W. VOGEL
1940

HARVARD UNIVERSITY
SCHOOL OF MEDICINE AND PUBLIC HEALTH
LIBRARY

Purchase
41

Printed in Germany

3855
8-5

Inhalt des 196. Bandes

Seite

Amann, A., s. H. Richter

Berichtigung 566

Brücke, Dr. **Franz v.,** und Dr. **Hans Sarkander,** Über Beziehungen zwischen Aneurin und dem Azetylcholinstoffwechsel. Mit 4 Textabbildungen 213

Dressler, E., und **K. Hölling,** Über die Auswertung von Schilddrüsenpräparaten. Mit 1 Textabbildung 266

Enders, A., Die Pharmakologie des herzwirksamen Stoffes der Mistel. Mit 5 Textabbildungen 328

Enders, A., O. Feuchtinger und **S. Janssen,** Die Chemie der wirksamen Stoffe der Mistel 290

Enger, R., und **H. Lampas,** Die Wirkung langfristiger Tyramin-Injektionen auf den Hund 171

Erspamer, Vittorio, Pharmakologische Studien über Enteramin. I. Mitteilung: Über die Wirkung von Acetonextrakten der Kaninchenmagenschleimhaut auf den Blutdruck und auf isolierte überlebende Organe. Mit 9 Textabbildungen (12 Einzelbildern) 343

Erspamer, Vittorio, Pharmakologische Studien über Enteramin. II. Mitteilung: Über einige Eigenschaften des Enteramins, sowie über die Abgrenzung des Enteramins von den anderen wirksamen Gewebsprodukten. Mit 8 Textabbildungen (10 Einzelbildern) 366

Erspamer, Vittorio, Pharmakologische Studien über Enteramin. III. Mitteilung: Über das Vorhandensein eines enteraminähnlichen Stoffes in Milzextrakten. Mit 9 Textabbildungen (10 Einzelbildern) . . 391

Feuchtinger, O., s. A. Enders und S. Janssen

Feuchtinger, Oswald, Die Pharmakologie des blutdruckwirksamen Stoffes der Mistel. Mit 6 Textabbildungen (10 Einzelbildern) 431

Feuchtinger, Oswald, Follikelhormon und Blutbild. Experimentelle Untersuchungen zur innersekretorischen Regulation der Blutbildung. . 644

Seite

Gad, Inger, Die Verhältnisse des β-Phenylisopropylamins im Kaninchenorganismus. I. Bestimmung des Gehalts an β-Phenylisopropylamin in Geweben und Organen. Mit 1 Textabbildung 25

Gad, Inger, s. Erik Jacobsen

Gaede, Dietrich, Über die Wirkung fortgesetzter Nikotininjektionen bei Kanarienvögeln 164

Genuit, H., und **W. Haarmann** (Unter Mitwirkung von cand. med. Fischer), Zur Frage der Spezifität der Digitalis-Stoffwechselwirkungen an Herz- und Skeletmuskulatur von Ratte und Meerschweinchen 481

Gollwitzer-Meier, Kl., Erwiderung auf Gremels' Arbeit: „Über die Beziehungen des Kohlehydratstoffwechsels zur Physiologie und Pharmakologie der Herzenergetik" 101

Gremels, Hans, Erwiderung auf die vorstehenden Bemerkungen von Gollwitzer-Meier 105

Gronemeyer, W., s. G. Orzechowski und G. Malorny

Haarmann, W., s. H. Genuit

Heim, Fritz, Allergie und vegetatives Nervensystem. Mit 6 Textabbildungen (27 Einzelbildern) 51

Hilbing, Rudolf, Die Digitalisempfindlichkeit des Herzens unter dem Einfluß einer schilddrüsenwirksamen Substanz. Mit 2 Textabbildungen 310

Hölling, K., s. E. Dressler

Hofmann, H., Über die pharmakologische Beeinflussung der Senfölentzündung 87

Jacobi, Ludolf, Zur Biologie und Pathologie des Plasmodium Gallinaceum (Brumpt). Mit 2 Textabbildungen (4 Einzelbildern) 623

Jacobsen, Erik, und **Inger Gad,** Die Verhältnisse des β-Phenylisopropylamins im Kaninchenorganismus. II. Abbau, Organverteilung und Ausscheidung bei normalen Tieren. Mit 1 Textabbildung 34

Jacobsen, Erik, und **Inger Gad,** Die Ausscheidung des β-Phenylisopropylamins bei Menschen 280

Janssen, S., s. A. Enders und O. Feuchtinger

Jeney, A. v., T. Vályi-Nagy und **J. Magyari,** Neue Beiträge zur Kenntnis des Antiheparin-Faktors der Leber. Über die Rolle der Redox-Systeme in der Blutgerinnung 505

Jung, Fritz, Zum Wirkungsmechanismus cholinergischer Stoffe. I. Mit 8 Textabbildungen 302

Seite

Kesztyüs, L., s. K. Piribauer

Köllensperger, F. K., Die Konstanz der Stromdosiskurven im mehrtägigen Versuch. Mit 2 Textabbildungen 226

Köllensperger, F. K., Einfluß des Lösungsmittels auf die Stromdosiskurve. Mit 1 Textabbildung 232

Lampas, H., s. R. Enger

Lánczos, Anna, Trennung von Azetylcholin und Kalium in Flüssigkeiten und Gewebsauszügen. Mit 5 Textabbildungen 322

Larsen, V., Die Verhältnisse des β-Phenylisopropylamins im Kaninchenorganismus. III. Der Abbau des β-Phenylisopropylamins in überlebenden Kaninchenorganen 43

Liebig, Hans, Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens. II. Experimentelle Untersuchungen. Der Einfluß der Digitalisgruppe auf den Kohlehydratgehalt des Herzens..... 137

Liebig, Hans, Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens. II. Experimentelle Untersuchungen. Der Einfluß der Camphergruppe auf den Kohlehydratgehalt des Herzens 545

Lissak, K., s. B. Rex-Kiss

Lissak, K., s. J. Martin

Lissák, K., und **J. Martin,** Beiträge zum Wirkungsmechanismus des Atropins. Mit 9 Textabbildungen (12 Einzelbildern) 558

Magyari, J., s. A. v. Jeney und T. Vályi-Nagy

Malorny, G., s. G. Orzechowski und W. Gronemeyer

Malorny, G., und **G. Orzechowski,** Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica. II. Vergleichende Untersuchungen über die Beeinflussung der Adrenalinwirkung durch ephedrinähnlich gebaute Substanzen. Mit 4 Textabbildungen 245

Malorny, G., und **G. Orzechowski,** Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica. III. Über die ephedrinähnliche Wirkung der Secalealkaloide Ergotamin und Ergometrin. Mit 4 Textabbildungen 253

Malorny, G., und **G. Orzechowski,** Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica. IV. Lokalanaesthetica als Sympathicomimetica 260

Malorny, G., und **G. Orzechowski,** Untersuchungen über den Mechanismus der Wirkung der Sympathicomimetica. V. Über die Wirkung einiger Aminosäuren auf die sympathischen Receptoren 469

Seite

Mansfeld, G., Humorale Übertragbarkeit der chemischen Wärmeregulation 573

Mansfeld, G., Das wirksame Prinzip der oxydationshemmenden Schilddrüsentätigkeit. Mit 10 Textabbildungen 598

Mansfeld, G., und **Eszter Mészáros,** Wirkung des Thyroxins auf die physikalische Wärmeregulation. Mit 3 Textabbildungen. 567

Mansfeld, G., und **Eszter Mészáros,** Weitere Untersuchungen über humorale Übertragbarkeit der chemischen Wärmeregulation. Mit 5 Textabbildungen 590

Mansfeld, G., und **Eszter Mészáros,** Über das Nichtvorhandensein einer zentrenlosen Wärmeregulation. Mit 9 Textabbildungen 609

Martin, J., s. K. Lissák

Martin, J., und **K. Lissák,** Einfluß des Piperidinomethylbenzodioxans (933 F) auf die Adrenalinreaktion des isolierten Säugetierherzens. Mit 4 Textabbildungen 1

Martin, J., und **K. Lissák,** Die Wirkung des Histamins auf den Gefäßtonus von Fröschen in Durchströmungsversuchen. Mit 2 Textabbildungen 6

Mészáros, Eszter, s. G. Mansfeld

Moser, Peter, Über chronische Schwefelwasserstoffatmung an Hunden 446

Müller, E. A., Die quantitative Auswertung der Wirkung des Veritols auf die Herzdynamik. Mit 15 Textabbildungen 455

Niessing, Klaus, und **Gerhard Orzechowski,** Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica. VI. Über die Wirkung einiger Sympathicomimetica auf die Deckzellen des Meerschweinchennetzes. Mit 2 Textabbildungen 473

Oelkers, H.-A., Zur Wirkungsweise von Santonin und Chenopodiumöl. Mit 1 Textabbildung 161

Oelkers, H.-A., Zur Frage der Entgiftung der Lokalanaesthetica insbesondere durch Adrenalin 493

Orzechowski, Gerhard, s. Klaus Niessing

Orzechowski, G., s. G. Malorny

Orzechowski, G., W. Gronemeyer und **G. Malorny,** Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica. I. Sympathicolytische Wirkung großer Dosen von Veritol. Mit 3 Textabbildungen . . 237

Piribauer, K., und **L. Kesztyüs,** Die Wirkung von Ergotoxin, 933 F, Cocain und Aminopyrocatechin auf den O_2-Verbrauch der Kaninchengewebe. 535

Seite

Pohle, F., und **H. Sarre,** Der Wirkungsmechanismus eines neuen peripheren Kreislaufmittels im Vergleich mit Veritol und Sympatol beim Menschen. Mit 10 Textabbildungen 408

Rentz, Ed., Methylenblau und Cholinesterase. Mit 9 Textabbildungen 148

Restorff, Hedwig v., Über Blutfarbstoffveränderungen nach Sulfanilamid-Derivaten. Mit 10 Textabbildungen 10

Rex-Kiss, B., und **K. Lissák,** Ca- und K-Gehalt der Nerven bei lokalem Tetanus 542

Richter, H., und **A. Amann,** Ist die Lunge chemosensibel? Mit 2 Textabbildungen 274

Sarkander, Dr. Hans, s. Dr. Franz v. Brücke

Sarre, H., s. F. Pohle

Schaumann, O., Über eine neue Klasse von Verbindungen mit spasmolytischer und zentral analgetischer Wirksamkeit unter besonderer Berücksichtigung des 1-Methyl-4-phenyl-piperidin-4-carbonsäureäthylesters (Dolantin). Mit 10 Textabbildungen (30 Einzelbildern) 109

Vályi-Nagy, T., s. A. v. Jeney und J. Magyari

Visscher, M. B., Sauerstoffverbrauch und Wirkungsgrad des insuffizienten Herzens. (Erwiderung auf die Arbeit von A. Rühl) 107

Walther, Richard, Beiträge zur Differenzierung der pharmakologischen Wirkungen von Stoffen der Digitalisgruppe. II. Vergleich der Wirkung von Gitoxigenin und Desazetyloleandrin auf das Elektrokardiogramm der Katze. Mit 10 Textabbildungen 201

Weigmann, Rudolph, Über die Wirkung des Strychnins auf den Froschmuskel 521

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Einfluß des Piperidinomethylbenzodioxans (933 F) auf die Adrenalinreaktion des isolierten Säugetierherzens.

Von

J. Martin und **K. Lissák.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juli 1940.)

Es wurde in einer früheren Mitteilung (1) bereits festgestellt, daß das 933 F an Straub-Herzen von Frühjahrsfröschen sowohl die positiv inotrope Wirkung des aus einem Froschherz oder aus dem Kammerwasser von Katzenaugen stammenden Sympathins, wie auch die Wirkung der entsprechenden physiologischen Adrenalinkonzentrationen hemmt, beeinflußt aber nicht die Herzwirkung der Sympathicusreizung; nach de Vleeschhouwer (2) dagegen ruft das Adrenalin beim innervierten Hundeherz auch nach Behandlung mit 933 F eine Tachycardie hervor. In letzterer Zeit teilten Hill und Myers (3) mit, daß das 933 F auf das denervierte, in situ befindliche Katzenherz und auf das Straub-Herz eine depressive Wirkung ausübt, beeinflußt aber nur in ganz geringem Maße die positiv chronotrope Wirkung des Adrenalins und der Sympathicusreizung.

Letztere Angaben weisen also darauf hin, daß die Adrenalinreaktion des Säugetierherzens durch das 933 F nicht auf dieselbe Weise beeinflußt wird wie die Adrenalinreaktion anderer sympathischer Effektoren (Blutdruck, Uterus, Nickhaut, Speicheldrüse). Zur Klärung dieser Frage haben wir an isolierten Herzen von verschiedenen Säugetieren (weiße Ratte, Meerschweinchen, Katze) die nachfolgenden Versuche vorgenommen.

Methodik.

Die Herzen wurden nach Langendorffscher Methode mit Tyrodelösung durchströmt. Der hydrostatische Druck des Perfusats wurde stets mit dem Blutdruck des Versuchstieres gleichgestellt. Zur Ausführung der Sympathicusreizung wurden einige Herzen mit dem rechtsseitigen Ganglion stellatum und 1—4 thorakalen Ganglien isoliert und die Nn. accelerantes auf Platinelektroden gelegt. Die Reizung erfolgte mittels Induktorium mit einer primären Stromstärke von 2 Volt, neben einem Schlittenabstand von 5–6 cm. Das Adrenalin wurde unmittelbar in die Herzkanüle injiziert, und zwar stets in einer Flüssigkeitsmenge von 1 ccm. Aus dem Volumen

der Kanüle ließ sich berechnen, daß die Adrenalinlösung in der Herzkanüle ungefähr auf das Dreifache verdünnt wurde. Bei den Untersuchungen wurde das 933 F in bestimmten Konzentrationen dem Perfusat beigemengt und das Herz durch Umschaltung der Perfusatgefäße dauernd durchströmt.

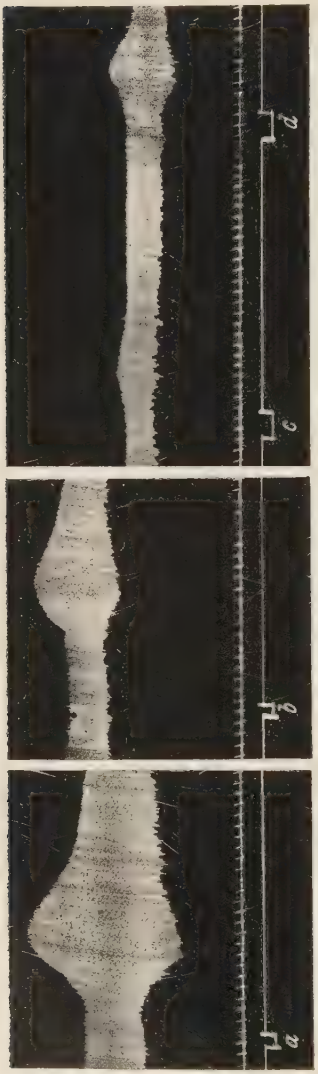


Abb. 1. Das Signal zeigt in jedem Versuch Abstände von 6 Sekunden. Isoliertes Rattenherz mit Tyrodelösung durchströmt. *a*: 0,01 γ Adrenalin; *b*: dasselbe wie *a* während Durchströmung mit 933 F enthaltender (1 : 100000) Tyrodelösung; *c*: dasselbe wie *a* und *b*; Konzentration des 933 F 1 : 50000; *d*: 0,05 γ Adrenalin.

A. Versuche an isolierten Rattenherzen.

An den mit Thyrodelösung durchströmten Rattenherzen konnte auf 0,01 γ Adrenalin noch eine gut ausgeprägte positive Herzwirkung beobachtet werden. Das 933 F hat in einer Konzentration von 1 : 100000 in drei Fällen von 14 Rattenherzen eine geringe depressive Wirkung gezeigt; bei den übrigen 11 Fällen hat die Höhe der Kontraktionen bedeutend zugenommen. Bei dieser Konzentration (1 : 100000) wurde die Adrenalinreaktion durch das 933 F nur wenig beeinflußt. In einer Konzentration von 1 : 50000 entfaltete das 933 F schon in 7 Fällen depressive Wirkung, bis in den übrigen 7 Fällen die Kontraktionshöhe teils unverändert blieb, teils etwas gestiegen ist. Die Adrenalinwirkung wurde bei letzterer 933 F-Konzentration bedeutend beeinflußt: 0,01 γ Adrenalin blieb wirkungslos und man konnte nur mit einer Menge von 0,1 γ die gleiche positive Wirkung erreichen wie vor der 933 F-Durchströmung mit 0,01 γ (Abb. 1).

Die Wirkung der Sympathicusreizung wurde weder in einer 933 F-Konzentration von 1 : 100000 noch in der von 1 : 50000 bedeutend beeinflußt (Abb. 2). In höheren Konzentrationen (in einer Verdünnung von 1 : 10000) war die depressive Wirkung des 933 F schon derart stark, daß positiv chronotrope und inotrope Wirkungen mit Sympathicusreizung und größeren Adrenalinkonzentrationen nicht mehr hervorgerufen werden konnten.

B. Versuche an isolierten Meerschweinchenherzen.

An Meerschweinchenherzen entfaltete 0,05 γ Adrenalin noch eine ausgeprägte positive Wirkung. Das 933 F wirkte schon in einer Konzentration von 1 : 100000 stark depressiv und verminderte bedeutend die Adrenalinempfindlichkeit der Herzen (Abb. 3). Die Wirkung der Sympathicusreizung war bei dieser Konzentration des 933 F nicht beeinflußt.

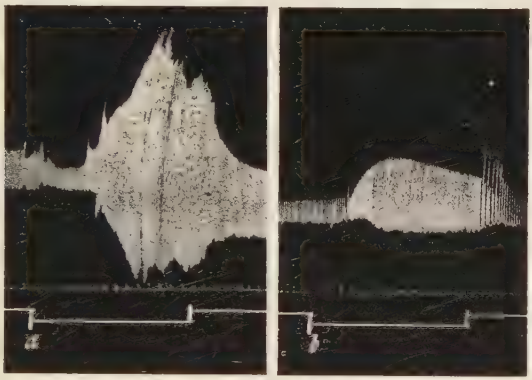


Abb. 2. Isoliertes Rattenherz.
a: Reizung der rechtsseitigen Acceleranten mittels Induktionsstrom; *b*: dasselbe wie *a* während Durchströmung mit 933 F enthaltender (1 : 50000) Tyrodelösung.

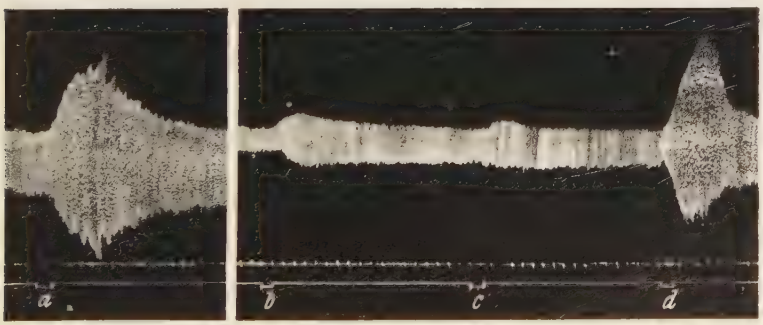


Abb. 3. Isoliertes Meerschweinchenherz.
a: 0,2 γ Adrenalin; *b*: 0,1 γ Adrenalin, das Perfusat enthält 933 F in einer Konzentration von 1 : 100000; *c*: 0,2 γ Adrenalin; *d*: 1 γ Adrenalin.

C. Versuche an Katzenherzen.

Die kleinste wirksame Adrenalinmenge an Katzenherzen beträgt 0,1 γ. Die Adrenalinempfindlichkeit der Herzen war bei einer 933 F-Konzentration von 1 : 100000 bedeutend herabgesetzt (Abb. 4). Bei höherer Konzentration (1 : 50000) entfaltete das 933 F eine geringe depressive Wirkung auf die Herztätigkeit; die Adrenalinempfindlichkeit der Herzen

wurde derart herabgesetzt, daß eine positive Wirkung bei dieser Konzentration nur durch eine Adrenalindose von 1 γ hervorgerufen werden konnte.

Die positiv inotrope Wirkung der Sympathicusreizung wurde an Katzenherzen durch das 933 F nur so weit beeinflußt, daß die depressive Wirkung des letzteren mit der Zunahme der Konzentration immer stärker in Erscheinung trat. Bei einer Konzentration von 1 : 10000 wurden sowohl die Katzen- wie auch die Ratten- und Meerschweinchenherzen durch das 933 F so stark geschädigt, daß nach einer kurzdauernden Arrhythmie völliger Herzstillstand eingetreten ist. In diesem Zustand blieb so das Adrenalin wie auch die Sympathicusreizung wirkungslos.

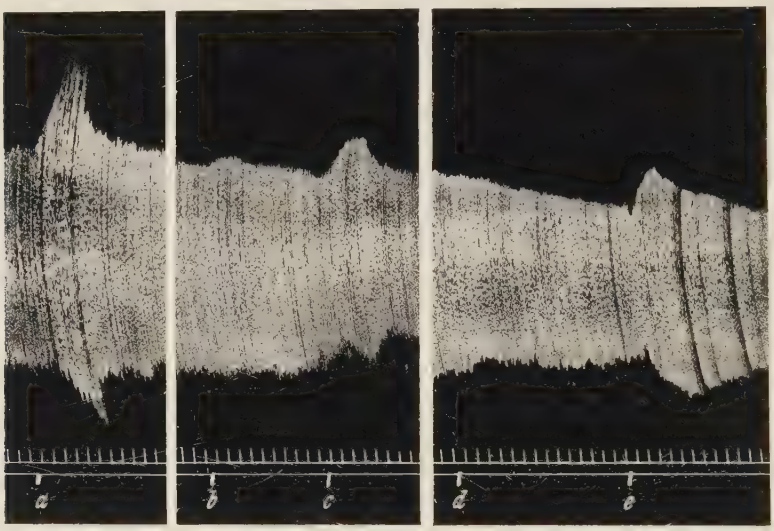


Abb. 4. Isoliertes Katzenherz.
a: 0,1 γ Adrenalin; *b*: dasselbe wie *a*; die Tyrodelösung enthält 933 F in einer Konzentration von 1 : 100000; *c*: 0,5 γ Adrenalin; *d*: dasselbe wie *c*; 933 F-Konzentration 1 : 50000; *e*: 1 γ Adrenalin.

Es geht aus diesen Versuchsergebnissen hervor, daß das 933 F auf isolierte Säugetierherzen parallel mit ihrer Konzentration eine depressive Wirkung ausübt. Die Reaktionsfähigkeit dieser geschädigten Herzen ist sowohl gegen das Adrenalin, wie auch gegen die Sympathicusreizung bedeutend herabgesetzt. Höhere Verdünnungen des 933 F (1 : 100000) hemmen noch die positiven Herzwirkungen kleiner Adrenalinmengen, beeinflussen aber weder die Reaktion auf Sympathicusreizung, noch die Wirkung größerer Adrenalindosen. Die an verschiedenen isolierten Säugetierherzen gemachten Beobachtungen stimmen mit den früher erwähnten an Straub-Herzen von Frühjahrsfröschen erhaltenen Versuchsergebnissen von Lissák (1) vollkommen überein. Der Wirkungsmechanismus des 933 F kann damit erklärt werden, daß die Oxydation des Adrenalins durch

das 933 F sowohl in vitro wie auch in vivo gesteigert wird [Bayer und Wense (4), Morison und Lissák (5)]. Die abweichenden Versuchsergebnisse von Hill und Myers (3) können somit dadurch erklärt werden, daß diese Autoren gezwungen waren, mit großen Adrenalinmengen (0,25 mg) zu arbeiten, da die Versuche an nicht hypodynamen Straub-Herzen von Herbst- und Winterfröschen vorgenommen wurden. Die von Lissák an Straub-Herzen durchgeführten Versuche haben darauf hingewiesen, daß der Adrenalinwirkung-hemmende Einfluß des 933 F nur an hypodynamen, d. h. gegen Adrenalin hochempfindlichen Straub-Herzen von Frühjahrsfröschen beobachtet werden kann, und nur bei Anwendung kleiner, aber noch wirksamer Adrenalinmengen.

Es geht aus den oben geschilderten und aus den früher mitgeteilten Versuchen eindeutig hervor, daß das 933 F einen allgemeinen, Adrenalinwirkung-hemmenden Einfluß nur in so hohen Konzentrationen ausüben kann, die das Herz stark schädigen. Es ist also kaum berechtigt, aus den Wirkungen dieser Substanz wichtige physiologische Folgerungen zu ziehen.

Zusammenfassung.

Das 933 F besitzt eine mit ihrer Konzentration zunehmende depressive Wirkung auf das isolierte Katzen-, Ratten- und Meerschweinchenherz. Bei höherer Konzentration des 933 F nimmt die Reaktionsfähigkeit der Säugetierherzen gegen Adrenalin und Sympathicusreizung bedeutend ab. In höheren Verdünnungen wird die positive Herzwirkung kleiner Adrenalinmengen durch das 933 F aufgehoben bzw. vermindert, ohne daß dabei die Reaktion der Sympathicusreizung bedeutend beeinflußt wäre.

Literatur.

1) Lissák, K.: Amer. J. Physiol. **124**, 62 (1938). — 2) Vleeschhouwer, G. de: Arch. internat. Pharmacodynam. **50**, 251 (1935). — 3) Hill, W. T., u. G. S. Myers: Amer. J. Physiol. **126**, 305 (1939). — 4) Bayer, G., u. T. Wense: Arch. internat. Pharmacodynam. **58**, 103 (1938). — 5) Morison, R. S., u. K. Lissák: Amer. J. Physiol. **123**, 404 (1938).

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Die Wirkung des Histamins auf den Gefäßtonus von Fröschen in Durchströmungsversuchen.

Von

J. Martin und **K. Lissák.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juli 1940.)

Nach Überlegung der diesbezüglichen bisherigen Angaben müssen unsere Kenntnisse über die Wirkungsweise des Histamins auf die Froschgefäße als höchst unsicher betrachtet werden. Die Versuchsergebnisse einiger Autoren sprechen für eine erweiternde (1), andere für eine verengernde (2) und wieder andere für die vollkommene Wirkungslosigkeit (3) des Histamins. [Für ausführliche Literatur soll auf die Monographie von Feldberg und Schilf (4) hingewiesen werden.]

Einer von uns (5) hat bereits in einer vorangehenden Mitteilung darauf hingewiesen, daß die an Straub-Herzen beobachteten entgegengesetzten Wirkungen des Histamins von den Jahreszeiten abhängig sind und hauptsächlich mit den durch die Schilddrüsenfunktion geregelten Schwankungen des Stoffwechsels und der Gewebsoxydation in Zusammenhang gebracht werden können. In dieser Mitteilung sind auch einige neuere Beobachtungen bezüglich der von den Jahreszeiten abhängigen Veränderungen der Schilddrüsenfunktion und des Stoffwechsels von Fröschen kurz zusammengefaßt.

Es liegt nahe, auf Grund der erwähnten Versuchsergebnisse daran zu denken, daß bezüglich des Verhaltens des Gefäßsystems gegen Histamin ebenfalls die jahreszeitlichen Veränderungen der Schilddrüsenfunktion und die Schwankungen der Gewebsoxydationsvorgänge in Betracht gezogen werden müssen. Zur Klärung dieser Frage wurde die Wirkung des Histamins an nach Trendelenburgs Methode durchströmten Fröschen in verschiedenen Jahreszeiten und nach Thyreoidektomie untersucht.

Methodik.

Die Versuche wurden an R. esculenta von Oktober bis Juni vorgenommen. Die hinteren Extremitäten waren mit Ringerlösung nach der Trendelenburgschen Methode durchströmt und die Tropfenzahl des unter konstantem Druck ausfließenden Perfusats mittels elektromagnetischem Signal registriert. Die Reaktion der Ringerlösung wurde kolorimetrisch bestimmt. Die Schilddrüsenexstirpation war nach Henschels (6) Methode in Äthernarkose ausgeführt.

A. Versuche an Herbst- und Winterfröschen.

Eine Versuchsreihe wurde an Trendelenburg-Fröschen von Oktober bis Februar durchgeführt. Die Präparate wurden 10—24 Stunden lang durchströmt und das Histamin in die Aorta-abdominalis-gebundenen Kanüle eingespritzt. Die Injektion wurde in Abständen von 30 Minuten wiederholt. Wir konnten in 17 Fällen von 20 nach 0,1—1 mg Histamin eine ausgeprägte Gefäßverengerung beobachten (s. Abb. 1, A und B). Im allgemeinen ist die Histaminempfindlichkeit der Gefäße parallel mit der

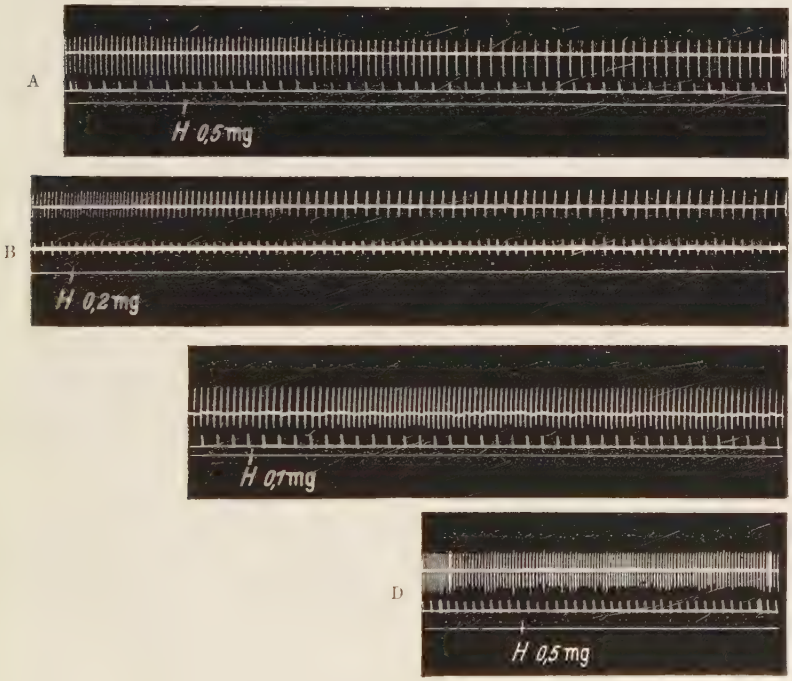


Abb. 1. A. Versuch am 7. Februar. 12 Std. durchströmtes Trendelenburg-Präparat,
B. „ „ 21. Januar. 22 „ „ Präparat,
C. „ „ 20. April. 5 „ „ „ .
D. „ „ 27. April. 4 „ „ „ .

Durchströmungsdauer gestiegen; auf der Abb. 1 zeigen die Versuche A und B z. B., daß an einem 22 Stunden lang durchströmten Präparat 0.2 mg Histamin größere Vasokonstriktion hervorgerufen hat als an einem 12 Stunden lang durchströmten Präparat 0,5 mg.

B. Versuche an Frühjahrsfröschen.

In den von März bis Juni ausgeführten Versuchen wurde die bei den Herbst- und Winterfröschen aufgetretene Gefäßverengerung nie beob-

achtet; 0,1—1 mg Histamin blieb vollkommen wirkungslos oder verursachte eine schwache Vasodilatation (s. Abb. 1, C und D).

Bei der Durchströmung von schilddrüsenexstirpierten Frühjahrsfröschen (6—7 Tage nach der Operation) haben 0,1—1 mg Histaminmengen die gleiche Vasokonstriktion hervorgerufen wie bei Herbst- und Winterfröschen (Abb. 2, A und D). Bei schilddrüsenexstirpierten Frühjahrsfröschen, denen wir am 6.—7. Tage nach der Operation 0,5 mg Thyroxin

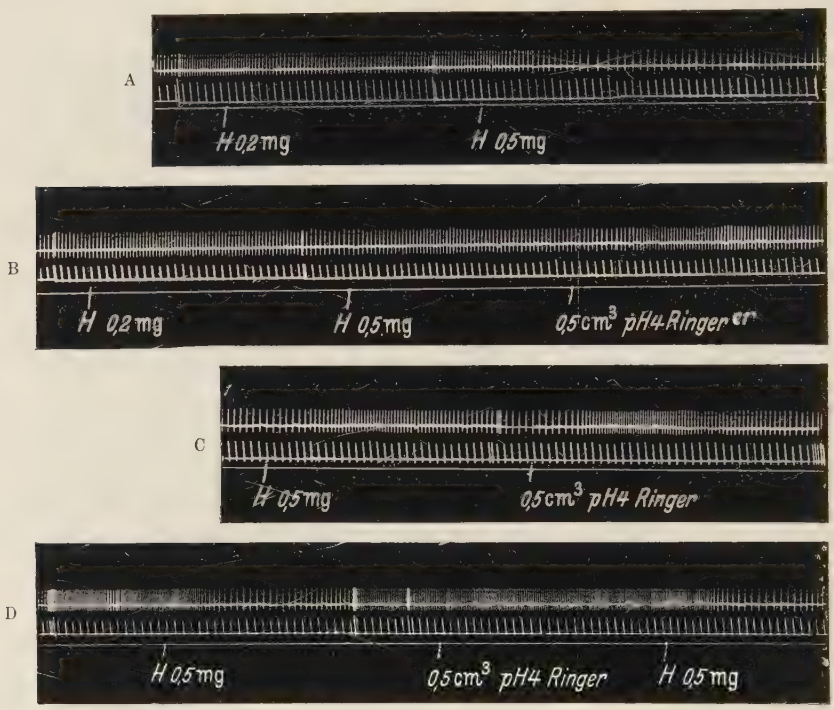


Abb. 2. A. Versuch am 1. Mai. 5 Std. durchströmtes Trendelenburg-Präparat. 7 Tage vorher Schilddrüsenexstirpation,
B. Versuch am 3. Mai. 6 Std. durchströmtes Präparat. 7 Tage vorher Schilddrüsenexstirpation, 2 Tage vorher 0,5 mg Thyroxin,
C. Versuch am 1. Mai. 3 Std. durchströmtes Präparat,
D. Versuch am 5. Mai. 4 Std. durchströmtes Präparat. 8 Tage vorher Thyreoidektomie.

injiziert haben und 1—2 Tage nachher durchströmten, ist dagegen die Vasokonstriktion wieder ausgeblieben. Nach Thyroxingabe wurde also das Histamin wieder wirkungslos oder verursachte eine geringe Vasodilatation, ebenso wie bei normalen Frühjahrsfröschen (Abb. 2, B).

Es soll endlich Clarks (7) Ansicht erwähnt werden, nach dem das Histamin am Trendelenburg-Präparat immer eine Vasokonstriktion hervorruft, vorausgesetzt, daß die Reaktion des Perfusats konstant gehalten wird. Clark nimmt an, daß in jenen Fällen, wo nach Histamingabe

eine Vasodilatation beobachtet wurde, der aktive Faktor immer die saure Reaktion der Ringerlösung war, da die Histaminsalze das Perfusat derart ansäuern, daß es schon selbst genügt, eine Gefäßerweiterung hervorzurufen. Unsere Versuche zeigen aber, daß die aufgetretene Vasokonstriktion nicht der durch das Histamin veränderten Reaktion des Perfusats zuzuschreiben ist. Wir konnten nämlich feststellen, daß angesäuerte Ringerlösung (p_H 4) so bei Winter- wie bei Frühjahrsfröschen und auch bei schilddrüsenexstirpierten Frühjahrsfröschen immer eine Vasodilatation hervorruft (Abb. 2, B, C und D).

Aus den mitgeteilten Versuchen geht eindeutig hervor, daß die nach Jahreszeiten ändernde Wirkung des Histamins auf die Froschgefäße auf die von der Funktion der Schilddrüse abhängigen Veränderungen zurückzuführen ist. Die Erkenntnis dieses Zusammenhanges erklärt auch vollkommen die früher erwähnten widersprechenden Angaben der Literatur.

Zusammenfassung.

Es konnte an nach Trendelenburgs Methode durchströmten Herbst-, Winter- und Frühjahrsfröschen festgestellt werden, daß das Histamin an Herbst- und Winterfröschen eine Vasokonstriktion hervorruft, an Frühjahrsfröschen aber vollkommen wirkungslos ist, oder eine schwache Vasodilatation verursacht. Bei schilddrüsenexstirpierten Frühjahrsfröschen ist wie bei Wintertieren nach Histamin Vasokonstriktion aufgetreten. An schilddrüsenexstirpierten Frühjahrsfröschen wurde nach Thyroxingabe das Histamin wieder wirkungslos oder es kam eine geringe Vasodilatation zustande, ebenso wie bei normalen Frühjahrsfröschen. Aus den Versuchsergebnissen geht hervor, daß die nach Jahreszeiten ändernde Wirkung des Histamins auf die Froschgefäße auf die von der Funktion der Schilddrüse abhängigen Veränderungen zurückzuführen ist.

Literatur.

1) Handowsky, H., u. E. P. Pick: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **71**, 89 (1913). — 2) Rothlin, E.: Biochem. Z. **111**, 257 (1920). — 3) Krogh, A.: Die Kapillaren. 2. Aufl., S. 170 (1929). — 4) Feldberg, W., u. E. Schilf: Histamin, S. 350—352 (1930). — 5) Lissák, K., u. F. Kokas, Z. exper. Med. **104**, 490 (1938). — 6) Henschel, H.: Z. exper. Med. **77**, 689 (1931). — 7) Clark, A. J.: J. Pharmacol. (Am.) **23**, 45 (1924).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über Blutfarbstoffveränderungen nach Sulfanilamid-Derivaten*.

Von

Hedwig v. Restorff.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Juli 1940.)

1. Einleitung.

W. Heubner hat kürzlich in einem größeren Zusammenhang (1) über die Veränderungen des Blutfarbstoffs, die bei der Chemotherapie mit Sulfanilamid und seinen Derivaten beobachtet worden sind, berichtet und die theoretischen Folgerungen diskutiert. Die Frage nach der Entstehung der hierbei so häufig gefundenen Cyanose ist Gegenstand einer großen Anzahl von klinischen und experimentellen Untersuchungen der letzten drei Jahre gewesen. Bisher ist von der Mehrzahl der Autoren (2) das Auftreten von Methämoglobin im Blute dafür verantwortlich gemacht worden, außerdem wird in mehreren Arbeiten auch über das Vorkommen von Sulfhämoglobin berichtet. Sulfhämoglobin wurde insbesondere dann beobachtet, wenn die Patienten gleichzeitig mit Sulfaten behandelt wurden oder an Verdauungsstörungen litten, in einzelnen Fällen aber auch, wenn diese Umstände ausgeschlossen waren [Archer und Discombe (3)][1]. Im Tierexperiment wurde von Richardson (5) nach Sulfanilamidfütterung bei Kücken Methämoglobin, bei Mäusen Sulfhämoglobin im Blute festgestellt. Die Befunde sind nicht einheitlich, und es läßt sich nach der vorliegenden Literatur auch keine eindeutige Beziehung zwischen dem Grad der Cyanose und dem Gehalt des Blutes an pathologischen Farbstoffen nachweisen, ebensowenig wie zwischen diesem und den verwendeten Sulfanilamiddosen [vgl. hierzu insbesondere Webb und Kniazuk (6)].

Nach dem Vorgang von Lemberg (7), F. Jung (8) und anderen Autoren sollte man statt der Bezeichnung Sulfhämoglobin besser Verdohämochromogen setzen, da es sich um ein Abbauprodukt des Blutfarbstoffs handelt, dessen Entstehung nicht an die Aufnahme von Schwefel gebunden ist. Wieweit es sich dabei nur um eine Zwischenstufe des normalen Abbaus handelt — der u. U. auf dieser Stufe gehemmt sein kann — wieweit abnorme Derivate in Frage kommen, ist noch nicht geklärt.

---

* D 11.

[1] Snapper (4) fand bei Phenacetin-Behandlung ebenfalls Sulfhämoglobin.

Jedenfalls ist die Methämoglobinbildung und -rückbildung ein Vorgang, der sich innerhalb von Stunden vollzieht, während die Bildung von Verdohämochromogen kein reversibler Prozeß ist, sondern eine dauernde Veränderung des Blutfarbstoffes bedeutet. (Das sogenannte Sulfhämoglobin ist übereinstimmenden Berichten zufolge noch Wochen nach Absetzen der Sulfanilamid-Medikamente im Blute von Patienten gefunden worden.)

Ein weiteres Anzeichen für irreversible Störungen am Blutfarbstoff darf man in der Porphyrinurie erblicken, die Rimington und Hemmings (9) an Ratten nach wiederholten Gaben von Sulfanilamid oder Prontosil solubile, Rimington (10) nach Sulfapyridin (Eubasin) ermittelten. Vermutlich hängt mit derartigen Störungen auch die Anämie zusammen, die gelegentlich auch beim Menschen beobachtet wurde (11); durch regelmäßige Zufuhr von Sulfanilamid oder Sulfapyridin u. a. erzeugte Richardson (12) an Mäusen eine Anämie mit Reticulocytose. Übrigens fand Brownlee (13) auch nach fortgesetzten Gaben anderer — chemotherapeutisch nicht wirksamer — Benzolderivate (Phenacetin, Pyramidon, Aspirin) an Ratten gesteigerte Porphyrinausscheidung und Anämie.

Die Unterscheidung der beiden oben angeführten pathologischen Derivate der Blutfarbstoffe kann am sichersten mit der spektroskopischen Methode getroffen werden. Die Bande im Roten, die bei beiden Farbstoffen beobachtet wird, verschwindet bei Methämoglobin auf Cyanidzusatz, während sie beim Verdohämochromogen erhalten bleibt.

Wendel, Wendel und Cox (2) weisen darauf hin, daß ein zuverlässiger spektroskopischer Nachweis, insbesondere des Methämoglobins, nur unter Berücksichtigung bestimmter Bedingungen vorgenommen werden kann. Vor allem muß die Blutprobe so rasch wie möglich nach der Entnahme zur Untersuchung kommen.

In unseren Versuchen sollte an gesunden Ratten, die mit Prontalbin und Prontosil flavum gefüttert wurden, mit dieser Methode festgestellt werden, ob es sich bei auftretenden Veränderungen des Blutfarbstoffs um Methämoglobin oder um Verdohämochromogen oder um beide Farbstoffe handelte. Dabei war die Wirkung niedriger und höherer Dosierung sowie kurzer und langandauernder Fütterung bezüglich des Ausmaßes und des Ablaufes der Veränderungen in Betracht zu ziehen.

2. Methodik.

Die Versuche wurden an 65 Ratten durchgeführt (Durchschnittsgewicht 200 g). Die Tiere wurden mit der Schlundsonde gefüttert; pro Tag wurde 0,1—0,3 g Prontalbin bzw. Prontosil flavum in einer 5%igen Mehlabkochung gegeben.

Zur Blutuntersuchung wurden 0,4 ccm Blut durch Herzpunktion* (in Äthernarkose) entnommen und mit 2,0 ccm Aqua dest. hämolysiert.

* Die Herzpunktion konnte an einzelnen Tieren bis zu 13mal — in Abständen von mehreren Tagen — ohne Schaden vorgenommen werden.

Das Blut blieb bis zur vollständigen Gerinnung stehen, wurde dann geschüttelt und, zur Abscheidung des Fibrins, 5 Minuten zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wurde vom Bodensatz abgegossen und abermals zentrifugiert.

Das Lichtabsorptionsspektrum der Blutproben wurde mit dem Zeissschen Spektrodensographen aufgezeichnet. (Schichtdicke: 10 mm, Graukeil mit normaler Steigung.)

Nach Zugabe von 2 Tropfen einer stark verdünnten wässerigen Lösung von Kaliumcyanid wurde eine zweite Lichtabsorptionskurve aufgenommen und endlich eine dritte nach Reduktion mit Natriumhydrosulfit und Durchleiten von CO.

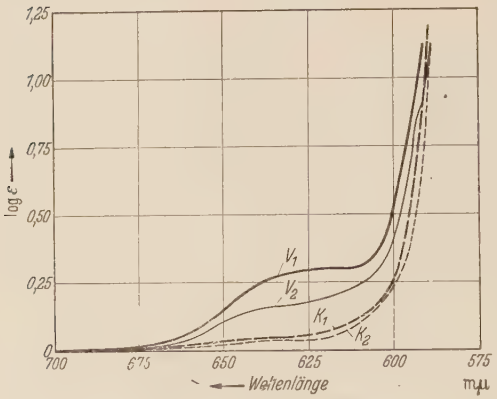


Abb. 1.
V_1 = (Versuchstier) verdünntes Blut
V_2 = „ „ „ + KCN
K_1 = (Kontrolltier) verdünntes Blut
K_2 = „ „ „ + KCN

Bei der angegebenen Verdünnung läßt sich nur die Lichtabsorptionskurve des Blutes im Roten darstellen, dabei wird die für Methämoglobin oder Verdohämochromogen — oder eine Mischung von beiden — charakteristische Verschattung im Roten deutlich aufgezeichnet.

Zur Erläuterung diene Abb. 1, die Lichtabsorptionskurven des Blutes von einem Versuchstier und einem unbehandelten Kontrolltier darstellt.

Die Bande im Roten, die im Absorptionsspektrum der Blutprobe des Versuchstieres (V_1) deutlich erkennbar ist — ebenso wie bei Betrachtung im Handspektroskop — kann bedeuten, daß das Blut Methämoglobin oder Verdohämochromogen oder beide Farbstoffe enthält. Behandlung mit Kaliumcyanid bringt das Methämoglobin zum Verschwinden; die Differenz zwischen den Kurven V_1 und V_2 entspricht also dem Gehalt des Blutes an Methämoglobin und die Differenz zwischen V_2 und K_2 dem Gehalt des Blutes an Verdohämochromogen.

Für die Darstellung der Verdohämochromogen-Bande sollte auch die Reduktion der Blutlösung mit Natriumhydrosulfit und Behandlung mit CO ein besonders geeignetes Verfahren sein. Es wurde auch in unseren Versuchen angewendet, jedoch erwies sich hierbei in vielen Fällen die Reaktion als sehr empfindlich gegen Einwirkungen z. T. unkontrollierbarer Art. Deshalb mußte von einer Auswertung der so gewonnenen Absorptionskurven im einzelnen abgesehen werden.

Das Maximum wurde, je nach seiner Lage, bei 630 mμ oder bei 620 mμ beurteilt. Die Höhe der Bande an dieser Stelle gibt ein Maß für den Gehalt des Blutes an pathologischen Farbstoffen.

Der abgelesene log des Extinktionskoeffizienten kann bei gleicher Konzentration der Blutverdünnung und gleichen optischen Bedingungen (vgl. S. 12) als relatives Maß für den geringeren oder höheren Gehalt des Blutes an pathologischen Farbstoffen genommen werden. log ε ist dann nämlich proportional der Farbstoffkonzentration. Er ist aus den aufgenommenen Kurven unmittelbar zu entnehmen. Im folgenden bedeutet E_1 dieses Maß für verdünntes Blut, E_2 für das Blut nach Behandlung mit KCN.

E_2 entspräche also dem relativen Verdohämochromogengehalt des Blutes, während die Differenz zwischen E_1 und E_2 (im folgenden nicht berechnet) als Hinweis auf den Methämoglobingehalt des Blutes anzusehen ist. - Die Verwendung solcher Maßangaben bei der Beschreibung der Versuchsergebnisse darf nur so und nicht als Angabe von absoluten Werten verstanden werden. Bei der Ablesung wurde eine Genauigkeit von $\Delta \log \varepsilon = 0{,}025$ innegehalten. Kontrollversuche mit dem Blut unbehandelter Tiere veranlaßten uns, das Vorkommen pathologischer Blutfarbstoffe erst dann als gesichert anzunehmen, wenn E_1 oder E_2 mindestens 0,10 betrug.

3. Versuche mit Prontalbin.

45 Ratten wurden — in verschiedenen Versuchsreihen — mit 0,1 bzw. 0,2 g Prontalbin gefüttert. Die Fütterung dauerte 2—9 Tage, bei einigen Tieren 7 Wochen. Im Verhalten der Tiere ließen sich schädliche Wirkungen dieser Behandlung nicht nachweisen. (Eine Ratte starb ohne erkennbare Todesursache.)

In einigen Versuchsreihen wurde die Blutentnahme erst nach Abschluß der Fütterungsperiode vorgenommen und an mehreren Tagen wiederholt, in anderen Reihen wurde auch während der Fütterungsperiode Blut entnommen.

a) Versuche mit einer täglichen Dosis von 0,1 g Prontalbin wurden mit 24 Ratten durchgeführt. Als Beispiel sei das Ergebnis einer Versuchsreihe mit 8 Ratten mitgeteilt:

Versuchsreihe 1 (Ratten 6—13). Fütterungsdauer: 9 Tage. Dosis: 0,1 g pro die. Herzpunktionen: $2^1/_2$ Stunden, 24 Stunden, 2 Tage, 5 Tage, 7 Tage und 8 Tage nach der letzten Fütterung.

Die Absorptionskurven der einzelnen Tiere waren etwas voneinander verschieden. Zur Auswertung der Versuchsreihe wurde für jeden Untersuchungstag der Durchschnittswert aus den Maxima der Absorptionskurven der 8 Tage (abgelesen bei 630 mμ) bestimmt. Die so erhaltenen 6 Durchschnittswerte sind, unter Berücksichtigung der Zeitabstände zwischen den Untersuchungstagen, in Abb. 2 als Kurve dargestellt. Aus der Abbildung wird deutlich, daß am Tage der letzten Fütterung im Blute der Ratten Methämoglobin und, in sehr geringer Menge, auch Verdohämochromogen vorhanden war (bei 3 Tieren war E_2 : 0,10). 24 Stunden später war der Methämoglobingehalt deutlich zurückgegangen, während

der geringe Verdohämochromogengehalt kaum verändert war. Vom 3. Tage an entsprachen die Kurven dem Befund bei Kontrolltieren.

Bei den übrigen 16 Versuchstieren (Ratten 14—29) war nur zweimal eine Herzpunktion vorgenommen worden, und zwar $2^1/_2$ Stunden und 24 Stunden nach der letzten Fütterung (bei kürzerer, unterschiedlicher Fütterungsdauer). Der Befund war der gleiche (bei 2 Tieren war E_2 : 0,10).

Die Veränderungen des Blutfarbstoffs sind bei der verwendeten Dosis von 0,1 g Prontalbin also nur geringfügig, wenn auch deutlich ausgesprochen gewesen.

b) Mit 16 weiteren Ratten wurden Versuche mit einer täglichen Dosis von 0,2 g Prontalbin durchgeführt.

Versuchsreihe 2. 3 Ratten (30, 31, 32). Fütterungsdauer: 2 Tage. Dosis: 0,2 g pro die. Herzpunktionen: vor Beginn des Versuchs, $2^1/_2$ Stunden, 24 Stunden und 72 Stunden nach der letzten Fütterung.

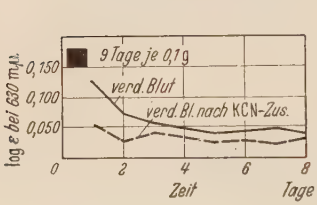


Abb. 2.

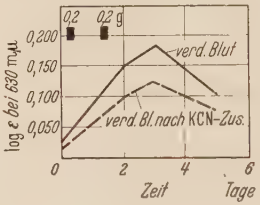


Abb. 3.

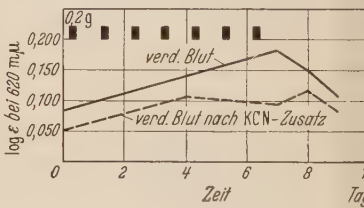


Abb. 4.

In Abb. 3 ist wieder die Durchschnittskurve aufgezeichnet. Im Vergleich zu den Ergebnissen der vorigen Versuchsreihen war jetzt sowohl die Methämoglobin- wie die Verdohämochromogenbande deutlicher ausgeprägt (E_2 bis zu 0,175). Sie waren am Tage nach der Fütterung sogar noch deutlicher als 24 Stunden danach. Wieder ist die raschere Rückbildung des Methämoglobins zu beobachten.

Versuchsreihe 3. 4 Ratten (33, 34, 35, 36). Fütterungsdauer: 7 Tage. Dosis: 0,2 g pro die. Herzpunktionen: Vor Beginn des Versuchs, $2^1/_2$ Stunden nach der 4. Fütterung, $2^1/_2$ Stunden, 24 Stunden und 48 Stunden nach der 7. Fütterung.

In Abb. 4 ist die Durchschnittskurve dargestellt. Die Methämoglobinbande war am 7. Fütterungstag deutlicher ausgeprägt als am 4. Tage, während die Verdohämochromogenbande sich weniger veränderte (E_2 bis zu 0,175). Nach Abschluß der Fütterung sank der Methämoglobingehalt wiederum rascher ab.

Die Lichtabsorptionskurve, die in den bisher beschriebenen Kurven immer dem in Abb. 1 dargestellten Typus entsprach und die ihr Maximum bei 630 mμ hatte, wurde bei 3 Tieren im Verlauf des Versuchs aus einer eingipfeligen zu einer zweigipfeligen Kurve, und zwar am oder nach dem 7. Fütterungstage. Die beiden Maxima lagen bei 620 und 640 mμ. (Die

Durchschnittswerte in der Abb. 4 sind daher aus Ablesungen bei 620 mμ bestimmt worden.)

Dieser Befund, sowie die Beobachtung, daß die einzelnen Tiere offenbar verschieden schnell und verschieden ausgesprochen auf die Prontalbinfütterung reagierten, ließen es notwendig erscheinen, einige Tiere über einen längeren Zeitraum mit der täglichen Dosis von 0,2 g Prontalbin zu füttern und das Verhalten der Blutfarbstoffe bei jedem einzelnen Tier für sich zu studieren. Hierzu boten die bisher beschriebenen Versuche wegen der quantitativ verhältnismäßig geringfügigen Veränderungen noch keinen Anlaß.

c) Dauerversuche mit Prontalbin.

Versuchsreihe 4. 4 Ratten (55, 56, 57, 58). Versuchsdauer: 53 Tage. Dosis: 0,2 g pro die. Herzpunktionen: am 15., 28., 34., 39., 45. und 52. Versuchstag, und

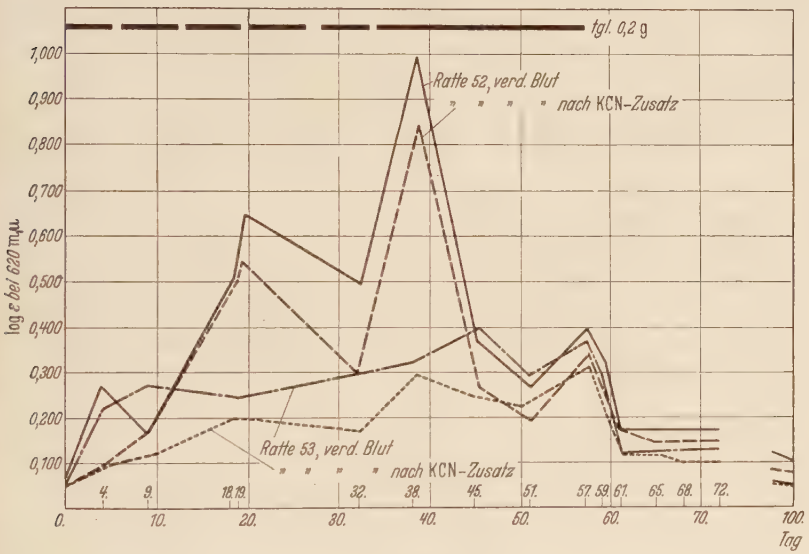


Abb. 5.

zwar jeweils 24 Stunden nach der letzten Fütterung. Die tägliche Fütterung wurde an den Punktionstagen ausgesetzt, ebenso dann, wenn Verletzungen bei der Sondenfütterung vorgekommen waren. Ein Tier starb am 46. Versuchstag an den Folgen der Herzpunktion (Sektionsbefund: Herzbeuteltamponade). Die anderen Tiere wurden nach der letzten Herzpunktion (53. Tag) durch Genickschlag getötet. Die Organe aller Tiere wurden zum Zweck der histologischen Untersuchung hergerichtet.

Versuchsreihe 5. 4 Ratten (50, 51, 52, 53). Versuchsdauer: 72 Tage. Fütterungsdauer: 57 Tage. Dosis: 0,2 g pro die. Herzpunktionen: Während der Fütterungsperiode: am 4., 9., 18., 32., 45., 51. und 57. Versuchstag, und zwar jeweils $2^1/_2$ Stunden nach der Fütterung; nach Abschluß der Fütterungsperiode: am 59., 61., 68. und 72. Versuchstag, zur Kontrolle noch einmal 43 Tage nach der letzten Fütterung. Eine Ratte (50) starb am 6. Versuchstag bei der Sondenfütterung, eine weitere (51) am 19. Versuchstag an den Folgen der Herzpunktion. Zum Ersatz

wurde eine 5. Ratte (54) mit den beiden übrig gebliebenen 25 Tage gefüttert und im übrigen ebenso behandelt.

Diese 3 Tiere wurden nach der Kontrollpunktion am 100. bzw. 68. Tag getötet.

Der Ablauf der Blutfarbstoffveränderungen war bei den einzelnen Tieren der Versuchsreihen 4 und 5 sehr verschieden. Zwei Beispiele gibt die Abb. 5.

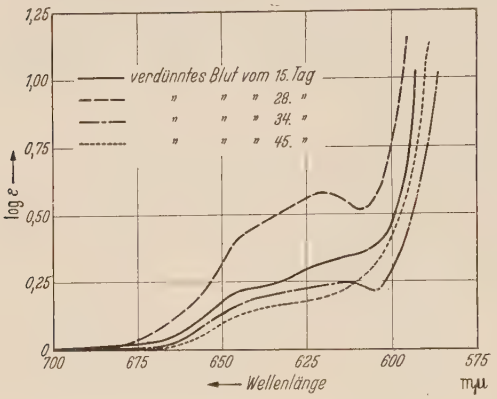


Abb. 6. Ratte 58.

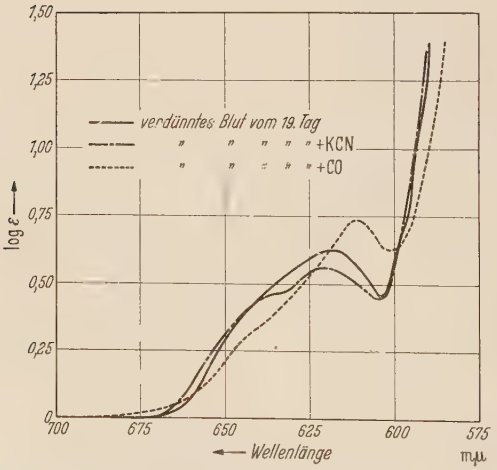


Abb. 7. Ratte 52.

Da die Herzpunktionen wegen der langen Dauer der Versuche nur in größeren Zeitabständen vorgenommen werden konnten, bedeuten die einzelnen Punkte der Kurven nur Stichproben; nicht alle Veränderungen der Absorptionskurven konnten zur Darstellung gelangen.

Bei Prontalbinfütterung über längere Zeit wurde — verglichen mit den vorher beschriebenen Versuchen — regelmäßig ein etwas höherer Methämoglobin- und ein sehr viel höherer Verdohämochromogengehalt im Blute beobachtet. Jedoch handelte es sich nicht um einen kontinuierlichen, proportional der zugeführten Prontalbinmenge verlaufenden Anstieg, sondern Erhöhung und Absinken insbesondere des Verdohämochromogengehalts wechselte während der Fütterungsperiode ohne Regel ab.

In Abb. 6 sind die Lichtabsorptionskurven für verdünntes Blut dargestellt, die bei einem Tier (58) in vier aufeinander folgenden Proben erhalten wurden. Das Blut vom 15. Tage der Fütterung zeigt deutlich zwei Absorptionsmaxima im Roten bei 615 und 645 mμ. Am 28. Tage sind die beiden Maxima noch deutlicher geworden, das erste hat sich auf 620 mμ verschoben; bei 610 mμ befindet sich ein Minimum. Der Verdohämochromogengehalt war an diesem Tage sehr hoch (E_1: 0,60, E_2: 0,45). Am 34. und 45. Tage war der Verdohämochromogengehalt

bedeutend niedriger und die beiden Maxima sind weniger ausgeprägt. Das Minimum von 610 mμ liegt am 34. Tage bei 605 mμ und ist am 45. Tage verschwunden.

In Abb. 7 ist eine ähnliche Lichtabsorptionskurve wie die vom 28. Tage (auf Abb. 6) dargestellt (Ratte 52), dazu die Absorptionskurve des mit KCN behandelten Blutes, die ebenso, nur etwas flacher, verläuft und ferner die Absorptionskurve nach Reduktion und Behandlung mit CO, die ein deutliches Maximum bei 612 mμ erkennen läßt*.

Solche Kurven wurden bei 3 Tieren gefunden (52, 57 und 58), ferner — jedoch in schwächer ausgeprägter Form — bei 3 weiteren (54, 53, 55). Ihr Auftreten war an einen besonders hohen Verdohämochromogengehalt des Blutes gebunden, der ja durch mehrere Stichproben nicht in allen Fällen auf seiner Höhe, sondern oft nur im Ansteigen oder Abklingen erfaßt werden konnte. Kurven der beschriebenen Art waren immer erst nach längerer Dauer der Fütterung zu beobachten, wie folgende Übersicht veranschaulichen soll.

Ratte Nr.	Versuchstag: noch nicht beobachtet am	Versuchstag: beobachtet am	E_1	E_2
52	9.	18., 19., 32., 38.	1,00 [1]	0,85 [1] [2]
53	51.	57.	0,375	0,325 [2]
54	16.	22.	0,35	0,25
55	15.	28.	0,425	0,275
57	45.	52.	0,35	0,25
58	15.	28.	0,60	0,45

[1] Am 38. Tag. — [2] Zu 52 und 53 vgl. Abb. 5.

Die verschiedenen Formen der Lichtabsorptionskurven pflegten im Laufe des Versuchs einander abzulösen, wie Abb. 6 erkennen läßt. Dazwischen konnte das Blut für kurze Zeit wieder fast normale Beschaffenheit haben. Dieser Befund macht es denkbar, daß Umwandlungen verschiedener Blutfarbstoffe oder Verschiebungen ihrer Mengenverhältnisse im Blute vor sich gegangen sind, und zwar bei den einzelnen Tieren in ganz verschieden raschem zeitlichen Ablauf und auch in verschiedenem Ausmaß. Ob hierfür Beschleunigung oder Verzögerung der Abbauvorgänge maßgeblich ist oder ob Ausscheidungsvorgänge eine Rolle spielen, läßt sich noch nicht beurteilen. (Die mehr oder minder rasche Ausscheidung des Sulfanilamids jedenfalls kann für veränderten Verdohämochromogengehalt des Blutes nicht verantwortlich gemacht werden.)

* Der gleiche Befund (Verschiebung des Maximums gegen Violett nach CO-Durchleiten) wird als charakteristisch für die Verdohämochromogenbande (sc. Sulfhämoglobinbande) angegeben von Clarke, Wood u. Hurtley (15), ferner von Posner, Guthrie u. Mattice (2), Archer und Discombe (3,14) und Richardson (5).

Bei 3 Tieren wurde das Verhalten der Blutfarbstoffe nach Abschluß der Fütterungsperiode untersucht. Wieder sank der Methämoglobingehalt des Blutes rascher als der Verdohämochromogengehalt, bis schließlich (bei 2 Tieren nach 4 Tagen, bei einem erst nach 8 Tagen) kein Methämoglobin und nur wenig Verdohämochromogen mehr festzustellen war (vgl. Abb. 5). Eine danach aufgetretene und weiter bestehende leichte Divergenz der Absorptionkurven vor und nach KCN-Behandlung könnte ebenso wie auf Methämoglobin wohl auch auf ein Verdohämochromogen mit dreiwertigem Eisen zurückzuführen sein. (Ein solches reagiert vermutlich wie Methämoglobin mit KCN unter Änderung seiner spektralen Lichtabsorption.)

Die am 43. Tage nach Abschluß der Fütterungsperiode vorgenommene Kontrolluntersuchung des Blutes von 3 Ratten ergab normale Befunde.

Bei Sulfanilamidbehandlung soll Methämoglobin, wie die Mehrzahl der zitierten Autoren berichtet, nach 24 Stunden nicht mehr im Blut der Cyanosepatienten nachzuweisen sein. Wendel, Wendel und Cox (2) allerdings geben an, daß eine Methämoglobincyanose tagelang (eine Sulfhämoglobincyanose wochenlang) andauere und daß Methämoglobin noch 4—5 Tage nach dem Verschwinden des Mittels aus dem Blute nachgewiesen werden könne. Eine Ursache für die mangelnde Übereinstimmung könnte vielleicht in Verschiedenheiten der Bestimmungsmethoden zu suchen sein (vgl. o. S. 11).

Die Tatsache, daß Methämoglobin noch tagelang nach Absetzen der Sulfanilamidzufuhr im Blute gefunden werden kann, steht nicht im Widerspruch zu den Befunden von F. Jung (16), v. Issekutz (17), Gelinsky (19). Diese Autoren stellten in Versuchen mit einmaliger Zufuhr von Methämoglobin oder Methämoglobinbildnern wie Phenylhydroxylamin (in vivo) fest, daß nach wenigen Stunden kein Methämoglobin mehr im Blute nachzuweisen war. In unseren Versuchen wie bei der Sulfanilamidtherapie überhaupt handelt es sich jedoch um längerdauernde Zufuhr des Medikaments, also um eine chronische Einwirkung. Es ist denkbar, daß ein vergiftendes System längere Zeit vorhanden bleibt und zu immer neuer Methämoglobinbildung führt, oder aber, daß durch dieses vergiftende System die Reduktion geschädigt und so die Rückbildung des Methämoglobins verhindert oder wenigstens verzögert wird*.

4. Versuche mit Prontosil flavum.

An 19 Ratten wurden Versuche mit einer täglichen Dosis von 0,1 bis 0,3 g Prontosil flavum durchgeführt. (0,3 g Prontosil flavum sind der vorher verwendeten Dosis von 0,2 g Prontalbin äquivalent.) Die Dosis von 0,1—0,15 g Prontosil flavum wurde von einigen Tieren auch bei länger-

* Vgl. hierzu auch die Überlegungen von Webb u. Kniazuk (6), S. 522.

dauernder Fütterung gut vertragen. Bei höherer Dosierung traten bei fast allen Tieren Vergiftungserscheinungen auf, die nach einiger Zeit zum Tode führten. Die Erkrankung der Tiere äußerte sich in Mattigkeit, Freßunlust und Steifigkeit, oft auch in einer ausgesprochenen nervösen Übererregbarkeit, d. h. Zittern in Ruhe, Hochspringen und Schreien auf Berührung. Auch neuritische Erscheinungen wurden beobachtet*. Besonders kritisch schien der zweite Versuchstag zu sein. Wurde die Fütterung abgebrochen, so erholten sich die Tiere wieder, gingen aber bei Weiterfütterung doch nach einigen Tagen unter den Zeichen der Kreislaufschwäche oder an den Folgen einer Herzpunktion (bzw. der Narkose) ein. Eine strenge Beziehung zwischen dem Allgemeinzustand der Tiere und dem Blutbefund ließ sich allerdings nicht feststellen.

Versuchsreihe 6. 8 Ratten (42—49). Versuchsdauer: Bis zu 36 Tagen. Dosis: 0,1—0,15 g pro die. Die Dosierung wechselte je nach dem Zustand der Tiere. Herzpunktionen: jeden 4. Tag oder öfter. Je ein Tier starb am 8., 9., 11., 12. und 13. Versuchstag. Die übrigen drei konnten 25, 30 und 36 Tage am Leben erhalten werden und starben, ohne besondere Krankheitserscheinungen, an den Folgen einer Herzpunktion.

Der Ablauf der Blutfarbstoffveränderungen war wieder bei den einzelnen Tieren sehr verschieden. Methämoglobin und Verdohämochromogen wurden am 4. Fütterungstag bei 6 von 8 Tieren, vom 8. Fütterungstag an bei allen Tieren nachgewiesen. Verdohämochromogen bildete sich also im Blute nach Prontosil flavum schon bei viel geringerer Dosierung als nach Prontalbin (0.1—0.15 g Prontosil flavum entsprechen 0.067—0,1 g Prontalbin). In den Lichtabsorptionskurven aller Tiere wurden — meist schon nach kurzer Zeit — die beiden Maxima im Roten bei 640 und 620 mμ gefunden. (Die Abhängigkeit dieser Kurvenform von der Höhe des Verdohämochromogengehalts ist nicht eindeutig.) Sehr hohen Verdohämochromogengehalt und entsprechende Lichtabsorptionskurven der in Abb. 7 dargestellten Art (mit Verschiebung des Maximums nach CO-Durchleiten) fand ich bei 4 Tieren, und zwar nach länger dauernder Fütterung, wie die Übersicht zeigt:

Ratte Nr.	Versuchstag		E_1	E_2
	noch nicht beobachtet am	beobachtet am		
42	8.	12.	0,475	0,30
45	8.	12.	0,30	0,15 *
46	17.	21.	0,55	0,35
47	30.	33.	0,60	0,50
47		36.	0,45	0,25

* Bei 45 war die Kurvenform angedeutet. Das Tier starb an diesem Tage nach der Punktion.

* Vgl. hierzu u. a. Richardson (5), ferner die Zusammenstellung von Molitor u. Robinson (18).

Abb. 8 gibt ein Beispiel für den Ablauf der Veränderungen bei einem Tier (47). Auch hier ist der wechselnde Verlauf sowie das raschere Absinken des Methämoglobingehalts nach vorübergehendem wie nach endgültigem Absetzen der Fütterung deutlich erkennbar.

Versuchsreihe 7. 7 Ratten (59—65). Versuchsdauer: Bis zu 9 Tagen. Dosis: 0,2—0,3 g pro die. Herzpunktionen: Jeden zweiten Tag oder öfter, je nach dem Zustand der Tiere. Sämtliche Ratten starben im Laufe der 9 Versuchstage (eine am 2. Tag, eine am 3. Tag, eine am 6. Tag, je zwei am 8. und 9. Tag).

Am 2. Tag war im Blute der Ratten ein geringer Methämoglobin- und Verdohämochromogengehalt nachzuweisen, vergleichbar dem Befund nach 2tägiger Fütterung mit 0,2 g Prontalbin (vgl. S. 14). In den nächsten Tagen stieg bei allen Tieren der Gehalt an Verdohämochromogen, jedoch in verschiedenem Ausmaße. Spätestens am 5. Tage waren, bei deutlich erhöhtem Verdohämochromogengehalt, in allen Lichtabsorptionskurven (5 überlebender Tiere) die beiden Maxima bei 640 und 620 mμ deutlich ausgeprägt (bei 2 Tieren schon am 2. Tage). Sehr hoher Verdohämochromogengehalt und die entsprechende Absorptionskurvenform (vgl. Abb. 7) fand sich bei 3 Tieren:

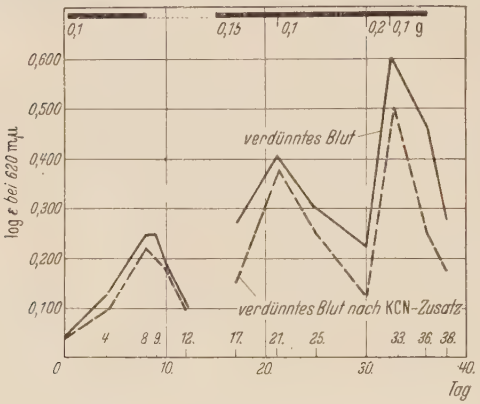


Abb. 8. Ratte 47.

Ratte Nr.	5. Tag		8. Tag	
	E_1	E_2	E_1	E_2
59	0,375	0,30	0,40	0,25
63	0,425	0,30	—	— *
64	0,525	0,40	0,65	0,275

* Ratte Nr. 63 starb am 6. Tage.

Eine Ratte reagierte auf die Dosis von 0,3 g Prontosil flavum pro die mit relativ gering bleibender Verdohämochromogenbildung und deutlicher Methämoglobinbildung:

Ratte Nr.		2. Tag	3. Tag	4. Tag	6. Tag	9. Tag
61	E_1	0,10	0,10	0,15	0,20	0,275
	E_2	0,10	0,10	0,125	0,10	0,175

Diese Ratte starb unter den gleichen schweren Vergiftungserscheinungen wie Ratte 63 (s. oben).

Ein Vergleich mit der tabellarischen Übersicht auf S. 17 zeigt, daß es sich bei den Tieren 59, 63, 64 um die gleichen, sehr ausgeprägten Veränderungen des Blutfarbstoffs handelte wie bei den Tieren im Prontalbin-Dauerversuch (52, 53, 54, 55, 57, 58). Bei äquivalenter oder geringerer Dosis von Prontosil flavum traten diese Veränderungen aber bedeutend früher auf.

5. Gegenüberstellung von Ergebnissen aus Prontalbin- und Prontosil flavum-Versuchen.

a) In der Tabelle 1 wird versucht, die relativen Extinktionskoeffizienten ($E = \log \varepsilon$) für das gefundene Verdchämochromogen aus Prontalbin- und Prontosil flavum-Versuchen gegenüberzustellen, wobei die Versuchsergebnisse nach vergleichbaren Bedingungen geordnet wurden. [Aus jeder Versuchsreihe wurden die E_2-Werte (im Durchschnitt) nur für einen Tag angegeben.]

Tabelle 1.

Mittel	Dosis g	Millimol	Anzahl der Tiere	Tag	Durchschnittswert E_2	Höchstwert E_2
Prontalbin	0,1	0,6	8	9.	0,065	0,100
Pront. flav.	0,1—0,15	0,3—0,5	8	8.	0,160	0,225
Prontalbin	0,2	1,1	4	7.	0,110	0,125
Pront. flav.	0,2—0,3	0,7—1,0	5	5. od. 6.	0,285	0,400

Eine solche vergleichende Übersicht läßt sich nur für den Zeitraum von etwa einer Woche geben, da später die Verhältnisse bei den einzelnen Tieren allzusehr verschieden werden (vgl. dazu oben).

Die Schwankungen des Methämoglobin-Gehalts unterliegen keiner erfaßbaren Gesetzmäßigkeit. Für ihn ließ sich ein Unterschied bei Prontosil flavum gegenüber Prontalbin nicht mit Sicherheit feststellen.

b) Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die Todesursachen in Prontosil flavum- und Prontalbin-Versuchen.

Tabelle 2.

Mittel	Zahl der Tiere	Tod bei der Sondenfütterung	Pericarditis	Tod bei der Herzpunktion	Tot aufgefunden, Ursache unbekannt
Prontalbin	46	2	1	13	1
Pront. flav. ...	19	1	1	11	6

Wenn man von Pericarditis und Sondenfütterungszufällen als Todesursachen absieht, ergibt sich in den Prontalbinversuchen eine Mortalität von 30%, in den Prontosil flavum-Versuchen eine Mortalität von 100%. Bei den Todesfällen nach der Herzpunktion wurde durch die Sektion meist Herzbeuteltamponade festgestellt; die meisten Prontosiltiere hatten

ein großes, schlaffes Herz. Die Sektion der im Käfig tot aufgefundenen Tiere ergab (makroskopisch) keinen erklärenden Befund, außer in den beiden gesondert aufgeführten Pericarditisfällen. Es handelte sich in der Mehrzahl um sichtlich kranke Tiere (vgl. S. 19).

6. Bericht über einen klinischen Fall von Verdohämochromogenämie.

(Bearbeitet von F. Jung.)

Im Verlaufe einer Behandlung mit Prontosil flavum entstand bei einer Patientin der I. med. Klinik eine besonders stark ausgeprägte Cyanose. Wir bekamen das Blut zur Untersuchung und konnten einen außerordentlich hohen Verdohämochromogengehalt feststellen, der die hier mitgeteilten Beobachtungen an Ratten noch übertrifft. In Abb. 9 ist die Lichtabsorptionskurve des Blutes dargestellt.

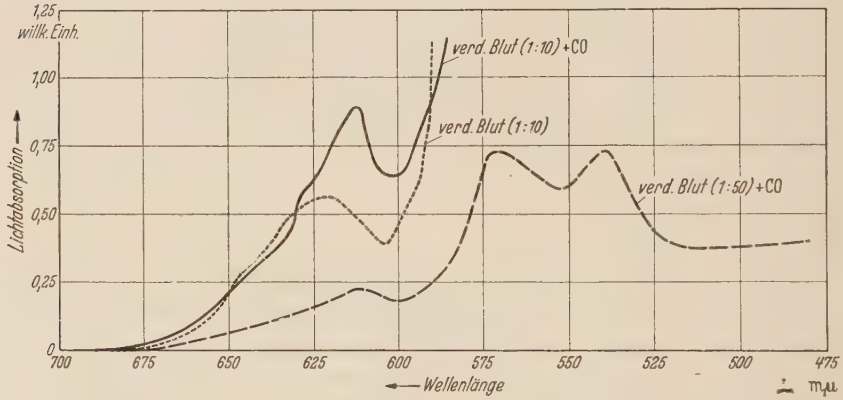


Abb. 9. Klinischer Fall nach Prontosiltherapie. Blut am Tage nach Absetzen des Mittels. (Kurve von Dr. Jung.)

Kurve I zeigt das Blut bei einer Verdünnung 1 : 10. Die kräftige Absorptionsbande im Roten behielt auf Kaliumcyanidzugabe ihre Intensität und verschob sich bei CO-Einleiten (Kurve II) gegen Blau. Bei einer Verdünnung 1 : 50 war sie immer noch deutlich zu sehen (Kurve III, ebenfalls nach Einleiten von CO).

Da die Patientin wegen einer Gallensepsis in die Klinik eingeliefert worden war, liegt der Verdacht auf eine Leberschädigung nahe. Eine solche würde sich sehr gut in das theoretische Bild einfügen, das wir uns heute von dem Entstehen einer Verdohämochromogenämie machen [vgl. F. Jung, a. a. O. (8)]. Doch wird der Fall durch eine gleichzeitig erfolgte Behandlung mit Magnesiumsulfat kompliziert. Dieses wird ja von mehreren Autoren (vgl. o. S. 10) für die Bildung von Verdohämochromogen verantwortlich gemacht. Ein ursächlicher Zusammenhang ist hier nicht auszuschließen.

Abb. 10 zeigt, wie außerordentlich langsam das einmal gebildete Verdohämochromogen aus dem Blute wieder verschwindet. Wenn auch kein Methämoglobin zu beobachten war (was wohl z. T. der raschen Rückbildung desselben zuzuschreiben ist), so entspricht doch dieser klinische Fall, trotz der viel geringeren Dosis, weitgehend den hier berichteten Versuchen an Ratten.

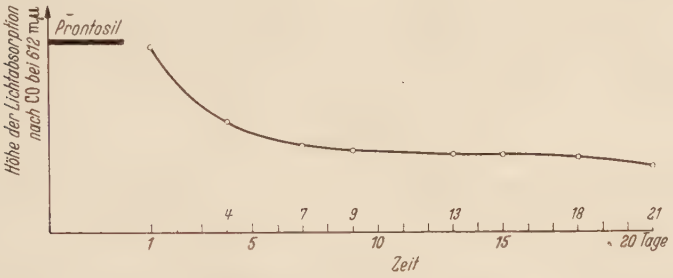


Abb. 10 (wie Abb. 9). Der Nullpunkt der Zeitabszisse liegt am Tage des Absetzens der Prontosilgaben.

7. Zusammenfassung.

a) Prontalbin in einer Dosis von 0,1—0,2 g pro die wird von gesunden Ratten auch bei wochenlanger Fütterung ohne Schaden vertragen, während Prontosil flavum in äquivalenter Dosis fast immer zu schweren Vergiftungserscheinungen und zum Tode führt. Eine Dosis von 0,1—0,15 g pro die (d. h. der halben bis zwei Drittel äquivalenten Dosis) wird von einigen Tieren auch über längere Zeit vertragen.

b) Im Blute läßt sich nach Fütterung mit beiden Präparaten stets Methämoglobin nachweisen, auch bei kurzer Darreichung und geringer Dosis. Verdohämochromogen entsteht bei Prontalbinfütterung mit kleinen Dosen nur in sehr geringer Menge, bei höherer Dosierung schon nach 2 Tagen deutlich. Nach wochenlanger Fütterung kann der Gehalt des Blutes an Verdohämochromogen beträchtliche Werte erreichen. Prontosil flavum verursacht schon in kleinen Mengen nach wenigen Tagen Verdohämochromogenbildung, die bei Weiterfütterung bedeutend rascher zunimmt als bei Prontalbindarreichung.

c) Nach Absetzen der Prontosil flavum- oder Prontalbinfütterung sinkt der Methämoglobingehalt des Blutes schneller als der Verdohämochromogengehalt.

d) Der Ablauf der Blutfarbstoffveränderungen ist bei den einzelnen Tieren außerordentlich verschieden, sowohl was das Ausmaß betrifft als auch in Beziehung auf den Wechsel verschiedener Phasen, die sich vor allem in Steigen und Sinken des Verdohämochromogengehalts wie auch in leichten Formveränderungen der Lichtabsorptionskurve kundtun. Der

Methämoglobingehalt scheint noch regelloseren Schwankungen unterworfen zu sein.

e) Beim einzelnen Tier läßt sich keine eindeutige Beziehung zwischen Blutfarbstoffveränderungen einerseits und Allgemeinzustand andererseits nachweisen. Ebensowenig entspricht der fortschreitend zugeführten Menge an Prontosil flavum oder Prontalbin eine kontinuierliche Steigerung des Gehalts an pathologischen Farbstoffen.

f) Cyanose wurde häufig beobachtet. Jedoch war eine klare Zuordnung des Verfärbungsgrades zu den spektrophotometrischen Befunden nicht möglich.

Literatur.

1) Heubner, W.: Chemotherapie von Infektionskrankheiten. Klin. Wschr. **1940**, S. 265—269 u. 289—293. Dort auch weitere Literatur. — 2) Hartmann, Anne Perley, Bennet: J. clin. Invest. (Am.) **17**, 699 (1938); Colebrook and Purdie: Lancet **1937**, II, S. 1291; Wendel: J. clin. Invest. (Am.) **18**, 179 (1939); Wendel, W. B., N. M. Wendel u. W. W. Cox: J. biol. Chem. (Am.) **131**, 177 (1939); Campbell and Morgan: Lancet **1939**, II, S. 123; Posner, Guthrie and Marjorie Mattice: J. Labor. a. clin. Med. (Am.) **23**, 804 (1938); Fox, C. L., J. and James Cline: J. clin. Invest. (Am.) XIX, 123 (1940). — 3) Archer and Discombe: Lancet **37**, II, 432. — 4) Snapper: Ndld. Tschr. Geneesk. **66**, 254 (1922). — 5) Richardson, A. P.: Bull. Hopkins Hosp., Baltim. LXV, 6 (1939). — 6) Webb and Kniazuk: J. biol. Chem. (Am.) **128**, 511 (1939). — 7) Lemberg: Biochem. J. **29**, 1322 (1935). — 8) Jung, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 16 (1939). — 9) Rimington and Hemmings: Biochem. J. **33**, 960 (1939). — 10) Rimington: Ebenda **34**, 78 (1940). — 11) Domagk: Klin. Fortbild. **7**, 28, 62 (1940). — 12) J. Pharmacol. (Am.) **67**, 429 (1939). — 13) Biochem. J. **33**, 697 (1939). — 14) Paton and Eaton, J. C.: Lancet **1937**, I, S. 1159; Wendel, W. B.: J. clin. Invest. (Am.) **18**, 179 (1939); Bensley, E. H., and Betty Wilén: Canad. med. Assoc. J. **41**, 62 (1939); Vigues, I., C. J. Watson, W. W. Spink: J. clin. Invest. **1940**, S. 83; Archer and Discombe: Lancet **1937**, I, S. 626; Ebenda II, S. 432; Gley: Bull. Acad. Med. Par. **118**, 377 (1937); Campbell and Morgan: Lancet **1939**, II, S. 123, 126. — 15) Clarke, Wood and Hurtley: J. Physiol. (Brit.) **36**, 62 (1907). — 16) Jung, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 464 (1939). — 17) v. Issekutz, B.: Ebenda **193**, 551 (1939). — 18) Molitor and Robinson: J. Pharmacol. (Am.) **65**, 405 (1939). — 19) Gelinsky: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 460 (1940).

Aus den Biologisch-chemischen Laboratorien A. G. Medicinalco, Kopenhagen S.

Das Verhalten des β-Phenylisopropylamins im Kaninchenorganismus.

I. Bestimmung des Gehalts an β-Phenylisopropylamin in Geweben und Organen.

Von

Inger Gad.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 11. Juli 1940.)

Der seit den letzten Jahren eingeführte klinische Gebrauch der β-Phenylisopropylaminsalze* macht es notwendig, daß man sich über das Verhalten dieses Amins im Organismus klar wird.

Zu diesem Zwecke haben wir in unseren Laboratorien eine größere Reihe von Untersuchungen vorgenommen, wovon die vorliegende Arbeit ein Glied ist, indem sie die Ausarbeitung einer Analysenmethode zur Bestimmung von β-Phenylisopropylamin in Geweben und Organen umfaßt.

Soweit uns bekannt ist, sind bisher keine solche Methoden veröffentlicht worden. Jedoch hat D. Richter (2) eine Methode zur Bestimmung im Harn ausgearbeitet. Nach seinem Verfahren wird das Amin von alkalisch gemachtem Harn mit Petroleumäther ausgeschüttelt, wozu man Pikrinsäure in Chloroform setzt, und die gebildete Farbenintensität stufenphotometrisch bestimmt. Nach unserer Methode werden die Organe mit Überschuß von NaOH destilliert, wodurch eine Homogenisierung des Gewebes erreicht wird, und das mit Wasserdampf flüchtige Amin überdestilliert. Aus dem Destillat wird das Amin mit Benzol ausgeschüttelt, wonach es nach demselben Prinzip wie von Richter bestimmt wird.

Die Aufgabe war, nach Injektion bekannter Mengen von β-Phenylisopropylaminsulfat in lebendigen Kaninchen nach variierenden Zeiträumen die zurückgebliebene Aminmenge in den verschiedenen Organen, Geweben und Exkreten nachzuweisen. Die Ergebnisse werden in den folgenden Arbeiten von Erik Jacobsen und Inger Gad und von V. Larsen veröffentlicht. In der vorliegenden Arbeit werde ich die Technik der Analyse klarlegen und ihre Verwendbarkeit beweisen.

---

* Unter verschiedenen Namen in den verschiedenen Ländern bekannt (Amphetamin, Benzedrin, Elastonon, Isoamin, Mecodrin, Ortedrin). Bei den hiesigen Versuchen haben wir das Präparat Mecodrin „Mco" verwendet, über dessen Reinheit und Eigenschaften auf Jens Hald und Inger Gad (1) hingewiesen sei.

Technik.

Die gewogenen Organe werden in der Fleischmaschine oder durch Sandreiben fein zerteilt und in aliquoten Portionen, von Größe des Organs und vermutetem Amingehalt abhängig, in einen 3 Liter-haltigen mit einem Dampfzuleitungsrohr versehenen Rundkolben gebracht. Nach Zusatz von etwa 400 ccm Wasser, etwa 100 g festem Paraffin, um Schaumbildung herabzusetzen, zugleich mit 100 ccm 30%igem NaOH für je 100 g Organ, destilliert man etwa 1 Liter in ein Vorlag, in welchem sich 25 ccm 4 n H_2SO_4 befinden. Wenn Überschäumen eintritt, muß das Destillat nach Zusatz von Paraffin und NaOH nochmals destilliert werden. Die Kühlung muß effektiv sein, so daß das Destillat wirklich kalt abläuft.

Nach Alkalisierung wird das Destillat mit 3×150 ccm Benzol ausgeschüttelt. Es ist möglich, hier die Benzolauszüge mit einer bekannten Menge n/50 oder n/100 HCl auszuschütteln, sorgfältig mehrmals mit Wasser zu spülen und in der Wasserphase das Amin mit n/50 oder n/100 NaOH gegen Methylrot zurückzutitrieren. Die Titration erzielt bei größeren Mengen von β-Phenylisopropylamin, wie z. B. bei den Organperfusionsversuchen verwendeten, gute Resultate.

Gewöhnlicherweise sind die zu analysierenden Aminmengen indessen so geringfügig, daß die photometrische Bestimmung sich bequemer und von größerer Genauigkeit zeigte. Die vereinigten Benzolschichten werden dann nach Auswaschen mit 2×25 ccm Wasser mit 20 ccm 0,1 n HCl und 2×15 ccm Wasser ausgezogen. Den Salzsäure- und Wasserphasen, insgesamt 50 ccm, werden 10 ccm 2 n NaOH zugesetzt, und die Lösung wird sorgfältig 3mal mit 20,0, 10,0 und 10,0 ccm aus einer Bürette abgemessenem Benzol ausgeschüttelt. Die vereinigten Benzolauszüge, welche genau 40,0 ccm ausmachen, werden mit 3mal 10 ccm CO_2-freiem Wasser ausgewaschen und nachher, um die letzten Reste des Wassers zu entfernen, zentrifugiert.

Kleinere Organe, wie Nieren, Zentralnervensystem usw., werden in einem gewöhnlichen Kjeldahl-Destillationsapparat ohne Wasserdampfzuleitung destilliert. Es werden 200 ccm Wasser, 20 g Paraffin und 30 ccm 30%iges NaOH zum Destillationsgefäß zugesetzt. Ein Destillat von etwa 150 ccm in einem Vorlag mit 10 ccm 2 n H_2SO_4 ist hinreichend. Nach Alkalisierung wird das Destillat 3mal mit insgesamt 200 ccm Benzol ausgeschüttelt, das Benzol mit n/10 HCl und Wasser extrahiert, wonach man wie oben beschrieben weiter verfährt.

Knochen werden vor der Destillation in konzentrierter HCl gelöst.

Harn-, Magen- und Darminhalt, wo eine Homogenisierung nicht notwendig ist, haben wir nach einer schonenden Methode destilliert, indem wir eine Kombination von Vakuumdestillation und Luftdurchsaugen verwendet haben. Die Analyse wird in einen 2-Liter-Rundkolben gebracht. Im Stopfen ist außer dem zum Kühler führenden Rohr auch ein langes,

fast bis zum Kolbenboden führendes Glasrohr angebracht, das oben mit einem regulierbaren Hahn versehen ist. Als Vorlage wird ein Vakuumkolben mit 10 ccm 2 n H_2SO_4 verwendet, unter dessen Oberfläche die Kühlerspitze ausmündet. Zur Analyse wird ein Überschuß von MgO zugesetzt, indem man die Reaktion mit ein paar Tröpfchen Phenolphthaleinlösung kontrolliert. Der Kolben wird im Wasserbad geheizt, und mittels eines Wassersaugers wird ein Luftstrom durch Analyse und Vorlag gesaugt, indem man den Luftstrom mittels des Hahnes so reguliert, daß der Destillationsdruck 20—30 mm Hg ausmacht. Man destilliert so lange, bis der Destillationskolben beinahe leer ist. Das Destillat wird alkalisiert und wie oben angegeben behandelt.

Durch zahlreiche Modellversuche haben wir gezeigt, daß man zum Kolbeninhalt zugesetzte Mengen von β-Phenylisopropylamin im Destillat quantitativ wiederfindet, sowohl wenn man reine wässerige Lösungen destilliert, als wenn man den zu destillierenden Organen bekannte Mengen zusetzt.

Was das Ausschütteln betrifft, haben wir Benzol für das Ausschütteln verwendet, da es uns, im Gegensatz zu Richter, nicht gelang, einen Petroleumäther zu finden, der quantitativ das β-Phenylisopropylamin ausschütteln konnte. Es zeigte sich notwendig, die vielen Operationen vorzunehmen, um das gebildete Ammoniak quantitativ und soviel wie möglich von störenden wasserlöslichen Aminen zu entfernen. Modellversuche zeigten, daß das Analysenmaterial die Operationen ohne Verluste durchmachte, wenn man nur eine gewisse Sorgfalt bei den Ausschüttelungen ausübte.

Mit den letzten, 40 ccm ausmachenden Benzolauszügen wurde die photometrische Messung vorgenommen, die nach dem zu analysierenden Organ oder Gewebe in einer Benzol-Chloroformlösung vorgenommen werden konnte, oder in einer Benzol-Benzinlösung, der eine kleine Menge Pyridin zugesetzt war, vorgenommen werden mußte.

Photometrierung in einer Benzol-Chloroformlösung.

4 ccm des Benzols (= $^1/_{10}$ des gesamten Analysenmaterials) werden in ein 10 ccm Meßkölbchen pipettiert, 1 ccm reines Benzol, 0,2 ccm 2,5%ige Pikrinsäure in chloridfreiem Chloroform und chloridfreies Chloroform bis zur Marke zugesetzt. Diese Lösung wird in Stufenphotometer, Filter S 43, gegen eine durch Zusatz von denselben Mengen Pikrinsäure und Chloroform zu 5 ccm reinem Benzol hergestellte Blindprobe gemessen. Da das Absorptionsmaximum vermutlich außerhalb des sichtbaren Spektrums liegt, kann die Ablesung recht schwierig sein. Wenn man aber die Schichtdicken so wählt, daß die Extinktion 0,45 nicht überschreitet, kann man gute und reproduzierbare Resultate erreichen. Bei größeren Extinktionen ist man geneigt, die Absorption zu klein zu finden.

Die Extinktionskonstante wird durch einen nach dem folgenden Verfahren hergestellten Standard bestimmt und kontrolliert: 0,100 g β-Phenylisopropylaminsulfat wird in etwa 100 ccm Wasser aufgelöst und nach einem Zusatz von 10 ccm 2 n NaOH mit 3×30 ccm Benzol ausgeschüttelt. Das Benzol wird in einem 100-ccm-Meßkolben filtriert und bis zur Marke mit Benzol nachgefüllt. 1 ccm entspricht 1 mg β-Phenylisopropylaminsulfat, und die Lösung ist 1—2 Tage haltbar.

Benzol-Benzin-Pyridinmethode.

Die oben beschriebene Farbenbildung gibt bei Harn und Mageninhalt befriedigende Resultate. Es zeigte sich dagegen, daß Destillate von Geweben und Organen Stoffe enthielten, die das oben beschriebene Verfahren unverwendbar machten, indem sie nicht allein eine beträchtliche unspezifische Farbenbildung veranlaßten, sondern auch die Farbenreaktion des β-Phenylisopropylamins störten.

Durch alkalische Destillation von 3 ganzen Kaninchen, Alkalisierung, Ausschütteln des Destillates mit Benzol und folgender Ausfällung mit Pikrinsäure erhielten wir kristallinisch als Pikrat den oder die störenden Stoffe. Wir besaßen nur wenige cg dieses Pikrats, und die genaue Identifizierung ist uns vorläufig nicht gelungen. Die freie Base gab indessen einen pyridinähnlichen Geruch und gab Farbenreaktion nach König (3) mit CNBr und aromatischem Amin (Sulfanilsäure). Es wurde so bewiesen, daß es sich um eine Pyridinverbindung handeln mußte.

Schmelzpunktbestimmung und Bestimmung der Molekulargröße zeigten, daß es sich kaum um Pyridin selbst handelte, aber es war wichtig, daß es sich zeigte, daß das unbekannte Pikrat in seinen Löslichkeitsverhältnissen sich wie Pyridinpikrat verhielt, und daß Überschuß von Pyridin die Ausfällung des unbekannten Amins als Pikrat unter den gegebenen Umständen beschleunigen konnte.

Versuche teils mit dem isolierten Amin und teils mit Pyridin zeigten, daß die Farbenbildung der beiden Pyridinbasen im Gegensatz zu derjenigen des β-Phenylisopropylamins mit der Stoffkonzentration nicht proportional war, und daß die Farbenbildung mit β-Phenylisopropylamin bei Anwesenheit dieser Amine mit steigenden Konzentrationen von dem unbekannten Amin oder von Pyridin stets mehr gehemmt wurde (Tabelle 1).

Die große Gleichheit in den Lösungsverhältnissen zwischen Pyridinpikrat und dem unbekannten Pikrat verursachte, daß wir zuerst mit Pyridinpikrat einige Modellversuche vornahmen. Hierbei zeigte es sich, daß man durch Verwendung einer Mischung von Benzol und einer speziell hergestellten Benzinfraktion erreichen konnte, daß die störenden Stoffe als Pikrate ausfielen, während das Pikrat des β-Phenylisopropylamins sich in der Lösung hielt.

Tabelle 1. Farbenbildung von Pyridin allein und Mischungen von Pyridin und β-Phenylisopropylamin in 5 ccm Benzol + 0,5 ccm 2,5%iger Pikrinsäure in Chloroform, Chloroform zu 10 ccm.

I	II	III	IV
Pyridin mg	Extinktion in 10 mm Schicht Filter S 43 für Pyridin allein	Extinktion in 10 mm Schicht von Pyridin + 0,125 mg β-Phenylisopropylamin	Extinktionsanteil des zugesetzten β-Phenylisopropylamins
0,00	0,00	0,45	0,45
0,05	0,22	0,67	0,45
0,10	0,43	0,77	0,34
0,20	0,92	1,20	0,28
0,40	1,42	1,60	0,18
1,60	5,80	5,80	0,00

Es zeigte sich ziemlich schwierig, eine zu diesem Zweck verwendbare Benzinfraktion zu finden. Die folgenden Forderungen mußten erfüllt werden: 5 ccm Benzol mit 0,2 mg Pyridin, zugesetzt 0,5 ccm 2,5%iger Pikrinsäure in Chloroform, sollen durch Zusatz und Mischung mit 5 ccm der gesuchten Fraktion eine deutliche Unklarheit aufweisen, während 5 ccm Benzol mit β-Phenylisopropylamin entsprechend 1,0 mg Sulfat und ebenso 0,5 ccm 2,5%ige Pikrinsäure in Chloroform noch $^1/_2$ Stunde nach Mischung mit 5 ccm der obengenannten Fraktion klar bleiben müssen.

Ein zufällig eingekauftes Ligroin war ideell. Da es jedoch unmöglich war, mehr von dieser Ware zu beschaffen, und da alle anderen untersuchten Ligroinproben sich als unverwendbar zeigten, haben wir eine bestimmte Benzinfraktion bei unseren Untersuchungen benutzt, die wir als brauchbar befunden hatten.

20 Liter gewöhnliches Motorbenzin (von „Det Danske Petroleums Aktieselskab") wurden im Vakuum destilliert. Die letzten 5—6 Liter der am höchsten siedenden Fraktion wurden für sich aufgesammelt und nochmals fraktioniert. Bei 20 mm haben wir eine etwa 4 Liter große Portion aufgesammelt, die 50—77° überdestillierte. Diese Fraktion erfüllte die oben gestellten Forderungen und war verwendbar, während das unbehandelte Benzin und alle anderen Fraktionen, hierunter der Teil, der bei 20 mm unter 50° destillierte, sich unverwendbar zeigten, indem das β-Phenylisopropylaminpikrat in Benzolmischungen mit diesen Fraktionen zu wenig löslich war.

Versuche mit dem isolierten unbekannten Pikrat und β-Phenylisopropylamin gaben Resultate, die mit den obenerwähnten Modellversuchen mit Pyridin übereinstimmten, und es zeigte sich sogar, daß, wenn man den Analysen Überschuß von Pyridin zusetzte, das unbekannte pyridinähnliche Aminpikrat mit dem ausgefällten Pyridinpikrat viel schneller mitgerissen wurde.

Das Pyridinpikrat ist nicht durchaus unlösbar in Benzol-Benzinmischung, aber die kleine Menge, die zurückbleibt, hat in Praxis keinen Einfluß auf die Farbenbildung des β-Phenylisopropylamins und kann unter Verwendung derselben Konzentration in der Blindprobe ganz beseitigt werden. Wir haben mit einer gesättigten Pyridinpikratlösung gearbeitet, die zu erreichen war durch Zusatz von 0,1—0,2 mg Pyridin pro Analyse. Größere Mengen beschleunigten jedoch die Ausfällung, aber ein Zusatz bis zu 10 mg Pyridin hatte auf die Farbenbildung keinen Einfluß. Die gefundene Ausfällungszeit ist wenigstens 30 Minuten bei 10—16°. Längere Zeit, bis zu 4 Stunden, hat keinen Unterschied ergeben. Kleinere Temperaturen als die angegebenen geben eine Neigung zur Ausfällung des β-Phenylisopropylaminpikrats und müssen daher vermieden werden.

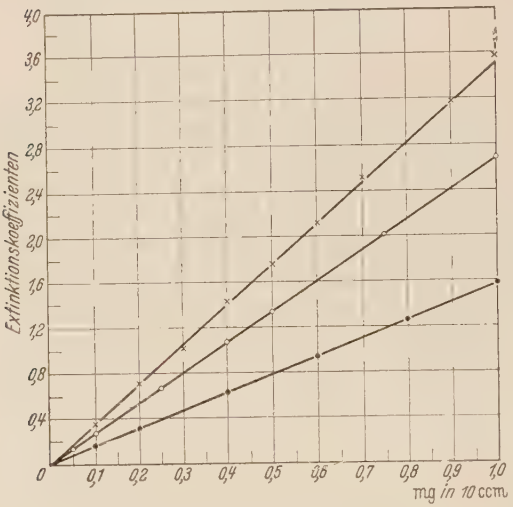


Abb. 1.

—×— Eichkurve des β-Phenylisopropylamins in der Benzol-Chloroformmischung.

—●— Eichkurve des β-Phenylisopropylamins in der Benzol-Benzin-Pyridinmischung.

—○— Eichkurve der Pikrinsäure in 50 % Alkohol.

Diesen Ergebnissen zufolge haben wir die endgültige Modifikation der Analysenmethode ausgearbeitet, mit welcher wir brauchbare Resultate erzielten:

4 ccm des Benzolauszuges werden in einem 12 ccm Zentrifugenglas 1,0 ccm 0,5 % Pyridin in Benzol, 0,5 ccm 2,5 % Pikrinsäure in chloridfreiem Chloroform und 4,5 ccm der Benzinfraktion zugesetzt. Die Zentrifugengläser werden zugepfropft und wenigstens 30 Minuten bei 10—16° hingestellt. Nachdem man das ausgefällte Pikrat abzentrifugiert hat, werden die Analysen im Pulfrich-Photometer. Filter S 43, gegen eine Blindprobe aus reinem Benzol mit den Reagenzien zugesetzt, abgelesen. Auch hier darf die Extinktion nicht etwa 0,45 überschreiten.

Tabelle 2 und 3 zeigen, daß man im Gegensatz zu der Benzol-Chloroformmethode durch diese Verfahren quantitativ zugesetztes β-Phenylisopropylamin wiederfinden kann. Tabelle 3 zeigt außerdem, daß man, obgleich die unspezifische Farbenbildung der Benzol- Chloroformmethode beträchtlich reduziert ist, doch auch bei der letztgenannten Methode einen gewissen Blindwert findet, dessen Größe indessen die Hauptergebnisse unserer Versuche nicht wesentlich beeinflußt.

Tabelle 2. Beispiel von „Blindwerten" einiger Kaninchenorgane nach der Benzolchloroformmethode und nach der Benzol-Benzin-Pyridinmethode und deren Einwirkung auf die quantitative Bestimmung des zugesetzten β-Phenylisopropylamins.

Gewebe oder Organ destilliert	Extinktion von $^1/_{10}$ des Benzolextraktes des Destillates nach der Benzol-Chloroformmethode (Blindwert)	Extinktionsanteil des zugesetzten β-Phenylisopropylamins	% β-Phenylisopropylamin nach der Benzol-Chloroformmethode wiedergefunden	Extinktion von $^1/_{10}$ des Benzolextraktes des Destillates nach der Benzol-Benzin-Pyridinmethode (Blindwert)	Extinktionsanteil des β-Phenylisopropylamins	% β-Phenylisopropylamin nach der Benzol-Benzin-Pyridinmethode wiedergefunden
Destilliertes Wasser	0,00	—	—	0,00	—	—
Destilliertes Wasser + 2,0 mg β-Phenylisopropylaminsulfat	0,72	0,72	100	0,32	0,32	100
202 g Muskulatur von Kaninchen 2. X. 1939	0,36	—	—	0,06	—	—
202 g Muskulatur von Kaninchen 2. X. 1939 + 2,0 mg β-Phenylisopropylaminsulfat	0,98	0,62	85	0,38	0,32	100
56 g Leber von Kaninchen 2. X. 1939	0,22	—	—	0,00	—	—
56 g Leber von Kaninchen 2. X. 1939 + 2,0 mg β-Phenylisopropylaminsulfat	0,82	0,60	83	0,32	0,32	100
71 g Darm + Ventrikel + Milz von Kaninchen 2. X. 1939	0,32	—	—	0,04	—	—
71 g Darm + Ventrikel + Milz von Kaninchen 2. X. 1939 + 2,0 mg β-Phenylisopropylaminsulfat	0,86	0,54	75	0,36	0,32	100
25 ccm Harn von Kaninchen	0,05	—	—	—	—	—
25 ccm Harn + 2,0 mg β-Phenylisopropylaminsulfat	0,74	0,69	97	—	—	—

Die Extinktionskurven (Abb. 1) zeigen, daß die Farbenbildung bei der Benzol-Chloroformmethode intensiver ist als bei der Benzol-Benzinmethode. Die erstgenannte muß daher vorgezogen werden, wo erfahrungsgemäß keine störenden Stoffe in den Destillaten auftreten, wie z. B. Harn.

Tabelle 3. Beispiel der Größe der Blindwerte einiger normaler und mit β-Phenylisopropylaminsulfat injizierter Kaninchen.

Tier	Totale Farbenbildung im ganzen Kaninchen als mg β-Phenylisopropylaminsulfat umgerechnet		Blindwert im ganzen Kaninchen als mg β-Phenylisopropylaminsulfat umgerechnet	
	nach der Benzol-Chloroformmethode	nach der Benzol-Benzin-Pyridinmethode	nach der Benzol-Chloroformmethode	nach der Benzol-Benzin-Pyridinmethode
Normales Kaninchen, 2600 g	12,14	2,97	12,14	2,97
Normales Kaninchen, 2400 g	12,90	3,95	12,90	3,95
Normales Kaninchen, 2150 g, 5 Min. vor der Tötung 20 mg β-Phenylisopropylaminsulfat intravenös injiziert	58,85	28,1	38,85	8,1
Dasselbe, 1820 g	41,55	25,1	21,55	5,1
Dasselbe, 2050 g	21,06	20,3	1,06	0,3

Identifikation.

Das Auftreten des Blindwertes macht es notwendig, daß das β-Phenylisopropylamin näher identifiziert wird. Wir haben das β-Phenylisopropylamin als Pikrat durch Schmelzpunkt- und, wenn möglich, auch durch Molekülzahlbestimmung identifiziert.

Was vom Benzolauszug nicht zur Photometrierung benutzt wurde, wurde mit 2 ccm n HCl und mit 2 ccm Wasser ausgeschüttelt. Die 4 ccm große wässerige Lösung des Aminsalzes wurde mit 1 ccm 30%igem NaOH alkalisiert und nachher mit 1 ccm Benzol ausgeschüttelt. Die Benzolschicht wird durch ein winziges, benzolbefeuchtetes Filter in ein Zentrifugenglas filtriert, und einige Tropfen einer mit Pikrinsäure gesättigten Benzollösung werden hinzugefügt. Nach einiger Zeit scheiden sich β-Phenylisopropylaminkristalle aus, die abzentrifugiert werden und durch Absaugen mit einem Kapillarrohr soweit wie möglich vom überstehenden Benzol befreit werden. Die Kristalle werden in Chloroform gelöst, die Lösung filtriert und mit Tetrachlorkohlenstoff gefällt. Das Pikrat wird auf ein Mikroglasfilter 30 a G 4 gesammelt (es kann in der Tetrachlorkohlenstoffmischung nicht niederzentrifugiert werden). Der Schmelzpunkt wird nach Lufttrocknung in Mikroschmelzpunktapparatur nach Fuchs mit einer Erwärmungsgeschwindigkeit von 2° pro Minute bestimmt. Die Umkristallisation wird bis zum konstanten Schmelzpunkt wiederholt. Der

Schmelzpunkt des reinen β-Phenylisopropylaminpikrats ist 142—143°. Man kann ohne Schwierigkeit weniger als $^1/_2$ mg Pikrat 3—4mal ohne nennenswerte Verluste umkristallisieren.

Wo Stoffmengen von 0,7—3 mg Pikrat vorhanden waren, haben wir eine Äquivalenzzahlbestimmung vorgenommen. Diese kann sehr bequem durch eine photometrische Bestimmung des Pikrinsäuregehaltes erreicht werden.

Die Pikrate werden auf der Mikrowage gewogen und in etwa 3 ccm Wasser gelöst. Das Wasser wird mit 1 ccm n NaOH alkalisiert und mit 2 × 2 ccm Benzol zwecks Entfernung des Amins ausgeschüttelt. Der Wasserphase ist 1 ccm n HCl zugesetzt und in einem Meßkolben mit Wasser auf 10 ccm verdünnt worden. Die wässerige Pikrinsäurelösung ist quantitativ mit absolutem Alkohol auf 20 ccm aufgefüllt. 2ccm dieser Lösung sind in einem 10-ccm-Meßkolben mit 50 Vol% Alkohol bis zu 10 ccm verdünnt und mit Filter S 43 photometriert. Der Pikrinsäuregehalt ist mittels der Extinktionskurve für Pikrinsäure in 50 Vol.%igem Alkohol berechnet (Abb. 1).

Beispiel.

1,846 mg Pikrat gibt Extinktion in 1 mm Schicht 0,32 = 1,16 mg Pikrinsäure.

Hiernach Äquivalenzzahl 362. (Berechnet für β-Phenylisopropylaminpikrat 364.)

Zusammenfassung.

Wir haben eine Methode zur Bestimmung des β-Phenylisopropylamins in Organen, Geweben, Exkreten usw. bei Kaninchen angegeben.

Die Methode ist auf eine Wasserdampfdestillation der Organe, Überführen des Amins vom Destillat zu Benzol und stufenphotometrische Bestimmung der Farbenintensität nach Zusatz von Pikrinsäure basiert.

Von den Organen können Stoffe, die eine unspezifische Farbenreaktion hervorrufen, und die die spezifische Farbenreaktion grob stören, überdestillieren. Es wird gezeigt, daß die störenden Elemente durch Fällung mit Pikrinsäure und Pyridin in einer Mischung von Benzol und einer näher beschriebenen Benzinfraktion entfernt werden können, während diese Mischung das β-Phenylisopropylaminpikrat nicht ausfällt. Die Analyse kann deshalb quantitativ in dieser Lösung vorgenommen werden.

Literatur.

1) Hald u. Gad: Dansk Tidsskrift f. Farmaci **12**, 97 (1938). — 2) Richter, D.: Biochem. J. **32**, 1763 (1938); Lancet **1938**, II, S. 1275. — 3) König: J. prakt. Chem. **69**, 105 (1904).

Aus dem Biologisch-chemischen Laboratorium A. G. Medicinalco, Kopenhagen S.

Das Verhalten des β-Phenylisopropylamins im Kaninchenorganismus.

II. Abbau, Organverteilung und Ausscheidung bei normalen Tieren.

Von

Erik Jacobsen und Inger Gad.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 11. Juli 1940.)

Bis jetzt liegen nur ziemlich spärliche Untersuchungen vor, die das Verhalten des β-Phenylisopropylamins im Organismus beleuchten können.

Wesentliche Beiträge zur Aufklärung dieser Frage sind von Richter (1) und von Blaschko, Richter und Schlossmann (2) geleistet worden. Diese Forscher haben sich indessen nur mit der Ausscheidung in Menschenharn und mit Oxydationsversuchen mit Gewebebrei beschäftigt.

Nach Einzeleingaben von β-Phenylisopropylaminsalzen hat Richter im Harn 80% der gesamten gegebenen Menge wiedergefunden, und zwar im Laufe von mehreren Tagen nach der Eingabe ausgeschieden.

Durch die Vitro-Versuche haben Blaschko und seine Mitarbeiter gezeigt, daß Leber, Darm, Niere und Hirngewebe Amine vom Typus $R \cdot CH_2NH_2$ zu oxydieren vermögen. Diese Oxydation hat man im ganzen Tierreich gefunden, und es ist durch die Untersuchungen sehr wahrscheinlich gemacht, daß die Oxydation dieser Amine von demselben Enzym, oder möglicherweise von einer Gruppe sehr verwandter Enzyme, verursacht wird.

Amine vom Typus $R \cdot R' \cdot CHNH_2$, unter denen Blaschko und seine Mitarbeiter auch das β-Phenylisopropylamin untersucht haben, sind sehr langsam oxydierbar. Es ist gewöhnlich nicht gelungen, mit den Organbreien der obengenannten Organe eine Oxydation von Aminen des letztgenannten Typs zu erzielen. Es zeigte sich jedoch, daß die letztgenannten Amine von den Enzymen reversibel gebunden werden, und die Reaktionsfähigkeit der Enzyme gegenüber Aminen, wo die Aminogruppe an ein endgestelltes Kohlenstoffatom geknüpft ist, hemmen können.

Diese Arbeiten, die durch Messung des O_2-Verbrauchs im Warburg-Apparat ausgeführt sind, geben gewissermaßen eine Erklärung des wohlbekannten Faktums, daß Amine vom erstgenannten Typ, hierunter Adrenalin, Sympatol usw., bei Tierexperimenten und in der Therapie eine verhältnismäßig kurze Wirkung ausüben. Amine dagegen, wo die Amino-

gruppe nicht an ein endgestelltes Kohlenstoffatom geknüpft ist, hierunter Veritol, das hier besprochene β-Phenylisopropylamin, Pervitin und Ephedrin, alle eine erheblich längere Wirkung aufweisen. Die schnelle Oxydation des ersten Typs sollte also für die kurze Wirkung verantwortlich sein.

Wie wichtig die Untersuchungen von Blaschko und seinen Mitarbeitern auch sein mögen, so beantworten sie nicht die Frage, ob β-Phenylisopropylamin nicht anderweitig als durch die Oxydation im Organismus abgebaut werden kann, oder ob der einzige Eliminationsweg dieses Arzneimittels die unveränderte Ausscheidung durch die Nieren ist. Nach seinen Versuchen über die Ausscheidung bei Menschen meint Richter, daß das letztere der Fall sein müsse.

In der gegenwärtigen Arbeit haben wir nach Eingabe von β-Phenylisopropylaminsulfat das Verhalten dieses Amins im Kaninchenorganismus untersucht. Die Ergebnisse umfassen die Abbaugeschwindigkeit, die relative Verteilung in den Organen und die Ausscheidung durch die Nieren. In einer folgenden Arbeit von V. Larsen wird die Frage der Verhältnisse der isolierten überlebenden Organe gegenüber β-Phenylisopropylamin behandelt.

Technik.

Zu den Versuchen haben wir weiße männliche Kaninchen verwendet. Die Tiere wurden in Stoffwechselkäfigen, worin Harn und Fäces gesammelt werden konnten, untergebracht. In einigen Fällen, wo die gegebenen Dosen von β-Phenylisopropylamin in der Nähe der letalen Dosen lagen, haben wir diese urethannarkotisierten Tieren gegeben, weil die Narkose die tödliche Dosis des β-Phenylisopropylamins erhöht. Die Analysen der Organe der narkotisierten Tiere zeigten in keiner Hinsicht Abweichung von denen der nicht narkotisierten Tiere. Die Dosis von racemischem β-Phenylisopropylaminsulfat wurde stets intravenös in 1%iger wässeriger Lösung, und zwar in die Marginalvene des Ohres injiziert.

Die Tiere wurden durch Öffnen der Karotide zu der festgesetzten Zeit nach der Injektion getötet, geschunden und partiert, indem die folgenden Gewebe und Organe zur Analyse aufgesammelt wurden: 1. Leber; 2. Nieren; 3. Magen, Darm, Mesenterium und Oment; 4. Zentralnervensystem, umfassend alle Teile von den Hemisphären einschließlich Rückenmark; 5. das aufgesammelte Blut; 6. die von den Knochen abdissekierten Muskeln und das Herz; 7. Knochen, Ligamente, Intugemente, Fettgewebe und Lungengewebe; 8. der in der Versuchsperiode aufgesammelte Harn und Blaseninhalt. In einigen Fällen wurde der Inhalt des Ventrikels und des Darmes für sich aufgesammelt und analysiert.

Bei zwei Kaninchen haben wir auch die Respirationsluft untersucht, indem wir das Tier in ein geschlossenes Gefäß brachten, durch welches die Luft 3 Stunden nach Eingabe des Aminsalzes durch Waschflaschen mit n/10 H_2SO_4 gesaugt wurde.

Tabelle 1. Gehalt der verschiedenen Organe des Kaninchens an β-Phenylisop

Datum 1939. Gewicht des Kaninchens	Eingegebene Aminsulfatmenge mg	Zeit zwischen Injektion und Abtötung	Muskulatur		Blut		Leber		Nieren	
			Gewicht g	Amingehalt	Gewicht g	Amingehalt	Gewicht g	Amingehalt	Gewicht g	Amingehalt
2. X. 2600 g	0	0	810	1,6 mg[1]	88	0	112	0	21	0
16. X. 2400 g	0	0	850	1,75 mg	81	0	76	0	16	0
6. X. 2150 g	20	5 Min.	650	10,0 mg 1,5 mg%	87	2,4 mg 2,75 mg%	76	4,1 mg 5,4 mg%	18	1,5 mg 8,3 mg
11. X 1820 g	20	5 „	545	10,7 mg 1,96 mg%	52	0,93 mg 1,7 mg%	105	3,4 mg 3,2 mg%	16	1,5 mg 9,35 mg
6. XI. 2050 g	20	5 „	756	8,0 mg 1,0 mg% F. 140°[3]	58	0,5 mg 0,7 mg% F. —	64	2,5 mg 4,9 mg% F. 139—140°	13	1,0 mg 7,7 mg F. 140°
2. XI. 2150 g	20	14 „	639	3,9 mg 0,6 mg% F. —	65	0,4 mg 0,7 mg% F. —	69	1,2 mg 1,7 mg% F. 138°	22	0,6 mg 2,9 mg F. 140°
30. X. 1900 g	20	30 „	637	8,5 mg 1,3 mg%	61	0	69	0,4 mg 0,6 mg%	16	0,4 mg 2,3 mg
16. XI. 2025 g	20	30 „						Gewicht 900 g Amingehalt 4,4 mg F. 140—142°		
14. XI. 2320 g	20	60 „						1000 g 3,25 mg F. 139°		
27. X. 1950 g	20	65 „	670	3,2 mg 0,5 mg% F. 141—143°	69	0	77	0,5 mg 0,7 mg% F. —	17	0
10. XI. 2100 g	20	98 „	642	1,0 mg 0,15 mg% F. —	62	0,06 mg 0,1 mg% F. —	100	0,1 mg 0,1 mg% F. —	15	0,2 mg 1,2 mg F. —
23. X. 1775 g	20	6½ Std.	610	0	64	0	50	0	19	0
18. X. 1770 g	20	12 „	560	1,0 mg 0,2 mg%	73	0	59	0	18	0,25 m 1,4 mg
4. XII. 2100 g	40	15 Min.						Gewicht 975 g Amingehalt 15,0 mg F. 139—141°		
20. XI. 2060 g	40	30 „						975 g 14,5 mg F. 140—141°		
24. XI. 2020 g	40	30 „						965 g 14,4 mg F. 141—143°		
22. XI. 2050 g	40	60 „						985 g 8,3 mg F. 139—141°		
27. XI. 1850 g	40	2 Std.						905 g 6,0 mg F. 140—142°		
30. XI. 2000 g	40	3½ „						830 g 2,0 mg F. 138—139°		

[1] Blindwerte auch als Sulfat des β-Phenylisopropylamins berechnet. — [2] Analyse nicht vorgenommen

lamin (als Sulfat berechnet) zu verschiedener Zeit nach intravenöser Eingabe.

Zentralnervensystem		Ventrikel + Darm ohne Inhalt		Knochen, Fell usw.		Inhalt des Ventrikels und der Därme		Harn		Im Ganzen wiedergefundenes β-Phenylisopropylamin (als Sulfat) mg
Gewicht g	Amingehalt	Gewicht g	Amingehalt	Gewicht g	Amingehalt	Ungefähre Menge g	Amingehalt	Menge ccm	Amingehalt	
14	0	142	0,5 mg	888	0,87 mg	300	0	19	0	2,97
16	0	190	0,4 mg	785	1,8 mg	300	0	15	0	3,95
13	0,9 mg 6,9 mg%	190	4,2 mg 2,2 mg%	696	5,0 mg 0,7 mg%	300	— [2]	0	0	28,1
13	0,4 mg 3,0 mg%	178	3,2 mg 1,8 mg%	640	5,0 mg 0,8 mg%	—	—	0	0	25,1
14	0,5 mg 3,6 mg%	180	2,9 mg 1,6 mg%	642	3,2 mg 0,5 mg%	300	1,7 mg	4	0	20,3
	F. —		F. —		F. 138°		F. 140°			
14	0,3 mg 2,6 mg%	195	2,0 mg 1,0 mg%	660	3,7 mg 0,6 mg%	350	1,8 mg	4	0	13,8
	F. —		F. 139—140°		F. —		F. 137—138°			
13	0,2 mg 1,5 mg%	156	1,0 mg 0,6 mg%	635	2,7 mg 0,4 mg%	400	0	17	0,06 mg	13,2
				520	2,0 mg 0,4 mg%	350	3,8 mg	33	0	10,2
					F. 140—142°		F. 140—142°			
				937	1,6 mg 0,2 mg%	450	2,1 mg	14	0	8,6
					F. 139°		F. 139—141°			
17	0	187	0,9 mg 0,6 mg%	577	2,4 mg 0,4 mg%	—	—	21	0	6,0
			F. 140—141°		F. 141—142°					
14	0,06 mg 0,4 mg%	176	0,2 mg 0,1 mg%	587	0,7 mg 0,1 mg%	350	2,5 mg	8,5	0	4,9
			F. —		F. —		F. 139—140°			
15	0	135	0	691	0,9 mg 0,13 mg%	200	0	40	0,4 mg	1,3
13	0	158	0	590	0,6 mg 0,1 mg%	—	—	150	1,0 mg	1,8
								F. 140°		
				765	6,2 mg	—	2,2 mg	30	0,25 mg	23,7
				F. 139—141°		F. 141—142°				
				777	6,0 mg	300	—	21	0	20,5
				F. 140—141°						
				692	5,9 mg	200	7,7 mg	47	0	28,0
				F. 140—142°		F. 141—143°				
				700	7,0 mg	450	10,0 mg	21	0	25,3
				F. 139°		F. 139°				
				637	2,3 mg	350	3,5 mg	38	0,6 mg	12,4
				F. 140—141°		F. 140—142°		F. 142—143°		
				795	0,9 mg	—	2,4 mg	20	1,0 mg	6,4
				F. —		F. 137—138°		F. 139—141°		

ungen. — [3] F. = Schmelzpunkt des isolierten umkristallisierten Aminpikrats.

Es wurde sorgfältig überwacht, daß das ganze Tier wie auch seine Exkrete in der Versuchszeit analysiert wurden, so daß man alles Amin, das unumgebildet verblieb, wiederfinden mußte.

Nach Abwiegen und Zerkleinerung wurde das ganze Organ, oder eine geeignete Menge davon, nach der von Inger Gad (3) beschriebenen Methode analysiert. Die gefundenen Werte umfassen den Blindwert und geben somit den Maximalgehalt des β-Phenylisopropylamins der Organe an. In jedem Falle haben wir das Aminpikrat zu isolieren versucht, um eine Schmelzpunktbestimmung vorzunehmen.

Der Umfang und die Ergebnisse der Versuche gehen aus Tabelle 1 hervor.

Die Abbaugeschwindigkeit des β-Phenylisopropylamins.

Abb. 1 gibt die im Totalorganismus wiedergefundene Aminmenge zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Eingabe wieder. Es geht hieraus hervor, daß die Hälfte des den Kaninchen gegebenen Aminsulfats nach $^1/_2$—1 Stunde eliminiert ist.

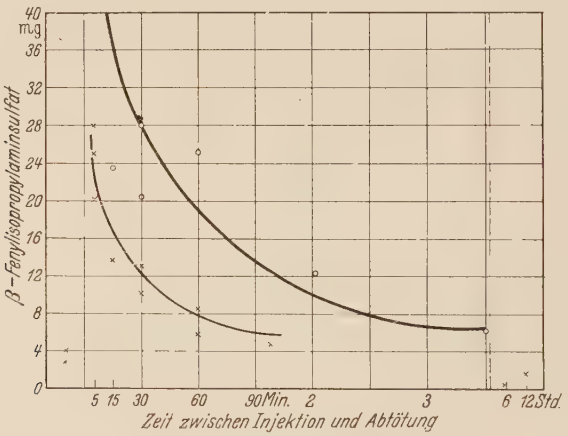


Abb. 1.

× Im ganzen Kaninchen wiedergefundenes β-Phenylisopropylamin (als Sulfat) nach Injektion von 20 mg.

○ Im ganzen Kaninchen wiedergefundenes β-Phenylisopropylamin (als Sulfat) nach Injektion von 40 mg.

Die Eliminationsgeschwindigkeit hängt von der gegebenen Dosis ab. Nach Eingabe von 40 mg werden etwa 20 mg während $^1/_2$—1 Stunde eliminiert, während in demselben Zeitraum nach Eingabe von 20 mg deutlich weniger eliminiert wird. Versuche, angestellt von V. Larsen mit isolierter Leber, zeigen, daß die eliminierte Menge nach noch größeren Aminkonzentrationen eine weitere Zunahme aufweisen kann.

Die Fähigkeit des Organismus, die hier gegebene Aminmenge zu eliminieren, hat somit nicht ihre äußerste Grenze erreicht. In diesem Falle würde man eine lineare Eliminationskurve erzielen, deren Neigung

von der Aminkonzentration des Tierorganismus unabhängig war, ganz wie es bei Äthylalkohol beobachtet worden ist.

Andererseits geht aus den Kurven hervor, daß die Halbierungszeit weder von der Dosis, noch von der Zeit nach der Injektion unabhängig ist, indem sie teils mit der gegebenen Aminmenge und teils mit der Zeitspanne, in welcher das Amin sich in dem Organismus befunden hat, zunimmt. Es ist sicher kein Irrtum, daß das letzte Phänomen sich in gewissem Grade auf den Kreislauf des Amins im Verdauungstraktus zurückführen läßt, den wir unten genauer besprechen werden.

Die Harnausscheidung.

Aus Tabelle 1 geht deutlich hervor, daß nur ein verhältnismäßig geringfügiger Teil des eliminierten Amins zur Ausscheidung durch die Nieren kommt. Wenn faktisch genommen alles Amin aus dem Organismus verschwunden war, konnten wir nur durchschnittlich 1 mg der gegebenen Menge im Harn wiederfinden. Bei anderen Versuchen, deren Einzelheiten hier nicht wiedergegeben werden sollen, haben wir nach Eingabe von 20 mg Aminsulfat auch nur 1,0—2,0 mg im Harn ausgeschieden gefunden. Diese Werte sind außerdem zu hoch, indem sie nach einem Blindwert im Kaninchenharn zwischen 0,0 und 1,27 mg mit einem Durchschnitt von 0,2 mg korrigiert werden müssen. Isolierung und Schmelzpunktbestimmung der im Harn nach Eingabe von β-Phenylisopropylamin ausgeschiedenen farbenbildenden Pikrate zeigen, daß diese hauptsächlich aus den Pikraten des gegebenen Amins bestehen.

Es ist also festgestellt, daß ein Teil des gegebenen Amins in den Harn ausgeschieden wird, aber höchstens 10% der gegebenen Menge.

In der Expirationsluft von 2 Kaninchen haben wir während 3 Stunden nach Injektion von 20 bzw. 30 mg β-Phenylisopropylaminsulfat überhaupt nichts gefunden. Der überwiegende Teil muß also durch Abbau oder Umbildung im Organismus eliminiert werden.

Die Verteilung in den Organen.

Schon 5 Minuten nach der intravenösen Injektion scheint ein Gleichgewicht der Stoffverteilung im Organismus eingetreten zu sein, indem die verhältnismäßige Verteilung später nicht wesentlich verändert wird.

Man sieht, daß die Verteilung in den untersuchten Organen und Geweben nicht gleichmäßig ist, so daß einige Organe eine Aminkonzentration erzielen, die die Blutkonzentration weit übertrifft; dies gilt für die Nieren, die Leber und das Zentralnervensystem.

Die Aminkonzentration der Nieren ist die höchste beobachtete — bis zum 7fachen der Blutkonzentration. Es ist interessant, daß die totale Aminmenge der Nieren 5 Minuten nach der Eingabe ungefähr von derselben Größe ist wie die Menge, die in den nächsten 6 Stunden durch den Harn ausgeschieden wird.

Die Konzentration in der Leber ist nicht so groß wie die der Nieren. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß die Leber laut den Versuchen von V. Larsen das Organ ist, das am schnellsten das β-Phenylisopropylamin abzubauen oder umzubilden vermag.

In Verbindung mit der das Zentralnervensystem erregenden Wirkung (kephalotropen Wirkung) ist es interessant, daß das Amin auch in relativ hohen Konzentrationen im Zentralnervensystem zu finden ist. Selbstverständlich ist es unmöglich, nach diesen Versuchen darauf zu schließen, inwieweit irgendein Zusammenhang zwischen der erhöhten Konzentration und der erregenden Wirkung besteht.

Die Konzentration des β-Phenylisopropylamins in den übrigen Organen und Geweben ist ungefähr von derselben Größe, und Schlußfolgerungen lassen sich aus diesen Zahlen nicht ziehen. Es ist jedoch deutlich, daß die Konzentration im übrigen Organismus viel kleiner ist als die in den obenerwähnten drei Organen.

Die hier besprochene Verteilung im Organismus tritt besonders deutlich hervor bei denjenigen Kaninchen, die bei den Versuchen von V. Larsen verhindert waren, β-Phenylisopropylamin abzubauen. Mit Bezug auf Einzelheiten verweisen wir auf diese Arbeit.

Die Ausscheidung in den Magen.

Bei dem Magen-Darmkanal haben wir eine eigentümliche Erscheinung gefunden. Aus der Tabelle geht hervor, daß der Inhalt des Magens bis zu $^1/_4$ der intravenös gegebenen Menge von β-Phenylisopropylamin enthalten kann. Auch hier wurde durch Isolierung und Schmelzpunktbestimmung des Pikrats gezeigt, daß es sich tatsächlich um das gegebene Amin handelt.

Tabelle 2. In dem Mageninhalt und dem Darminhalt gefundene Mengen von β-Phenylisopropylamin nach intravenöser Eingabe von 40 mg β-Phenylisopropylaminsulfat.

Datum 1939	Zeit nach der Injektion	Gehalt von β-Phenylisopropylamin (als Sulfat berechnet) in			
		Magen mg	Dünndarm mg	Coecum + Colon mg	Im ganzen Kaninchen wiedergefunden mg
4. XII.	15 Min.	2,1	0	0,1	23,7
27. XI.	2 Std.	3,0	0,4	0,16	12,4
30. XI.	$3^1/_2$ „	2,4	0	0	6,4

Tabelle 2 zeigt, daß die Hauptmenge des gefundenen Amins im Mageninhalt zu finden ist, während nichts oder nur wenig in dem übrigen Darmabschnitt vorhanden ist. Wenn etwas gefunden ist, ist es im Dünndarm, während Coecum, Colon und Rectum stets frei waren. Diese Beobachtung, in Verbindung damit, daß der Amingehalt des Magen-Darminhalts mit der nach der Eingabe vergangenen Zeit abnimmt, deutet darauf hin, daß das β-Phenylisopropylamin in den Magen ausgeschieden und später nochmals

resorbiert wird, sei es im Ventrikel selbst oder, vielleicht wahrscheinlicher, in den oralen Abschnitten des Dünndarms.

Ein zweiter direkter Beweis, daß das Amin in den Ventrikel ausgeschieden wird, gibt der folgende Versuch:

Durch die Speiseröhre eines urethannarkotisierten gehungerten Kaninchens wurde eine Magensonde geführt und das cardiale Ende des Oesophagus durch eine Laparotomie dicht um die Sonde ligiert. Die Pyloruspartie wurde freigelegt und um ein Katheter ligiert. Durch die Oesophagussonde wurde etwa 1—2 ccm physiologisches Kochsalzwasser pro Minute durch den Ventrikel gespült. Die Spülungsflüssigkeit wurde vom Pyloruskatheter aufgesammelt.

Nach einer Vorperiode von etwa 1 Stunde wurden 30 mg β-Phenylisopropylaminsulfat in die Ohrvene gegeben. Die Spülungsflüssigkeit wurde in Perioden abgetrennt und analysiert.

Das Resultat geht aus Tabelle 3 hervor. Obgleich die ausgeschiedene Menge β-Phenylisopropylamin nicht ganz dem entspricht, was wir im Ventrikel der nicht operierten Tiere gefunden haben, ist es jedoch deutlich, daß während des ganzen Versuches β-Phenylisopropylamin ins Spülwasser ausgeschieden ist. Die Ausscheidung ist in der ersten Periode verhältnismäßig am größten.

Tabelle 3. Ventrikeldurchspülung mit 0,9%iger Kochsalzlösung bei einem urethannarkotisierten Kaninchen nach intravenöser Eingabe von 30 mg β-Phenylisopropylaminsulfat. Gewicht des Kaninchens = 1725 g.

Zeit	Menge von Durchspülungsflüssigkeit in der Periode	β-Phenylisopropylamingehalt (als Sulfat berechnet) und Konzentration der durchgespülten Salzlösung
11^{45}—13^{47}	150 ccm	0
13^{47}	30 mg β-Phenylisopropylaminsulfat in die Ohrvene	
13^{47}—14^{04}	20 ccm	0,14 mg (0,69 mg%)
14^{04}—14^{20}	76 „	0,26 „ (0,35 „)
14^{20}—14^{35}	60 „	0,23 „ (0,38 „)
14^{35}—14^{55}	82 „	0,29 „ (0,36 „)
14^{55}—15^{25}	170 „	0,54 „ (0,32 „)
15^{25}—16^{35}	310 „	0,48 „ (0,16 „)
16^{35} restiert im Ventrikel	220 „	0,66 „ (0,30 „)

Insgesamt in den Ventrikel ausgeschieden: 2,60 mg. Schmelzpunkt des Pikrates 138—139°.

Diskussion.

Die Analysenmethode zeigt, daß die gefundenen Werte etwas zu groß sind, indem die meisten der Organe einen farbstoffbildenden Blindwert aufweisen, der nicht auf β-Phenylisopropylamin zurückzuführen ist. Der Blindwert ist jedoch im Vergleich mit dem gefundenen β-Phenylisopropylamin ziemlich gering, und es ist immer gelungen, bekannte β-Phenylisopropylaminmengen, die dem Organbrei zugesetzt waren, quantitativ

wiederzufinden. Die gefundenen Zahlen erbringen daher ohne jeden Zweifel den Nachweis, daß der Kaninchenorganismus imstande ist, das β-Phenylisopropylamin umzubilden oder abzubauen.

Wegen der obenerwähnten Blindreaktion braucht eine Farbenreaktion nicht ausschließlich einen Befund von β-Phenylisopropylamin zu bedeuten. Entscheidender Beweis ist nur gebracht, wo man das Aminpikrat isoliert und identifiziert hat. Dies ist z. B. im Ventrikelinhalt und im Harn ausgeführt.

Es scheint, als ob das Kaninchen β-Phenylisopropylamin anders als der Menschenorganismus behandelt. Verglichen mit der therapeutischen Dosis vermag das Kaninchen sehr große β-Phenylisopropylaminmengen in kurzer Zeit zu eliminieren. Nach Eingabe von 20 mg Sulfat bei einem Kaninchen ist innerhalb 6 Stunden faktisch genommen alles aus dem Organismus verschwunden, während Versuche von Richter (1) wie vom hiesigen Arbeitskreis zeigen, daß noch 24 Stunden nach Eingabe derselben Menge β-Phenylisopropylaminsulfat (20 mg = $^1/_{40}$ der Dosis nach Gewicht berechnet) nicht unbedeutende Mengen in Menschenharn ausgeschieden werden. Diese Versuche werden in einer späteren Arbeit veröffentlicht.

Zusammenfassung.

Mittels einer von Inger Gad ausgearbeiteten Methode zur Bestimmung des β-Phenylisopropylamins in Geweben und Organen haben wir das Verhalten dieses Amins nach intravenöser Eingabe bei Kaninchen untersucht.

Das Kaninchen vermag Dosen von 10—20 mg pro kg Körpergewicht innerhalb etwa 6 Stunden zu eliminieren.

Höchstens 10% des gegebenen Amins werden durch den Harn ausgeschieden. Das übrige wird im Organismus abgebaut bzw. umgebildet.

Die Abbaugeschwindigkeit steigt mit dem Amingehalt des Organismus, aber die Halbierungszeit des Abbaues nimmt mit der Dosis und der nach der Injektion vergangenen Zeit etwas zu.

Das β-Phenylisopropylamin verteilt sich im Organismus nicht gleichmäßig, indem Nieren, Leber und Zentralnervensystem, verglichen mit Blut, Muskeln, Fell und Stützengewebe, verhältnismäßig viel des gegebenen Amins enthalten.

Ein Teil des parenteral gegebenen β-Phenylisopropylamins wird in den Magen ausgeschieden, woraus es nach einiger Zeit wieder verschwindet.

Literatur.

1) Richter, D.: Biochem. J. **32**, 1763 (1938); Lancet **1938**, II, S. 1275. — 2) Blaschko, H., Richter u. Schlossmann: Biochem. J. **31**, 2187 (1937). — 3) Gad: Vorstehende Arbeit.

Aus dem Biologisch-chemischen Laboratorium A. G. Medicinalco, Kopenhagen S.

Das Verhalten des β-Phenylisopropylamins im Kaninchenorganismus.

III. Der Abbau des β-Phenylisopropylamins in überlebenden Kaninchenorganen.

Von

V. Larsen.

(Eingegangen am 11. Juli 1940.)

Versuche von Erik Jacobsen und Inger Gad (1) zeigen, daß eingegebenes β-Phenylisopropylamin in Kaninchen nach einigen Stunden nicht in den Organen oder in den Geweben des Tieres zu finden war, und auch nur wenig in den Harn ausgeschieden wurde. Das β-Phenylisopropylamin wird somit jedenfalls im Kaninchenorganismus abgebaut oder in irgendeiner Weise umgebildet.

Die vorliegende Abhandlung berichtet über Versuche, die zeigen, wo im Organismus dieser Abbau bzw. diese Umbildung stattfindet.

Leberperfusion.

Es ist natürlich anzunehmen, daß der Abbau des β-Phenylisopropylamins durch eine Desaminierung in der Leber zustande kommt. Deswegen wurden in erster Reihe Versuche mit Perfusion der überlebenden Leber in situ vorgenommen. Als es uns im Gegensatz zu Guggenheim und Löffler (2) nicht gelang, einen Abbau von β-Phenyläthylamin in Versuchen nachzuweisen, wenn die Leber mit Tyrodelösung nach den Angaben dieser Verfasser perfundiert wird, haben wir die Perfusion mit Blut vorgenommen. Bei dieser Versuchsanordnung konnte ein sehr schneller Abbau des zum Perfusionsblut zugesetzten β-Phenyläthylaminchlorids beobachtet werden, wonach wir zum Zusatz von β-Phenylisopropylaminsulfat zum Perfusionsblut übergingen. Nach dem Abschluß der Perfusion wurde sowohl Blut wie Leber quantitativ auf β-Phenylisopropylamin analysiert, teils nach der von Inger Gad (3) ausgearbeiteten photometrischen Methode, oder, wo es sich um größere Mengen des Amins handelte durch Titrierung der Benzolextrakte des Organdestillats.

Die Apparatur und die Perfusionstechnik war die von Niels A. Nielsen (4) beschriebene, wonach man mit sauerstoffdurchströmtem körperwarmem Blut perfundiert. Das verwendete Kaninchenblut war bei unseren Versuchen defibriniert und ungefähr zur Hälfte mit Tyrodelösung verdünnt. Die Infusion wurde durch die Pfortader vorgenommen, und das ablaufende Blut durch Vena cava inferior thoracalis aufgesammelt. Das

Minutenvolumen betrug 13—35 ccm und der Perfusionsdruck 3—17 mm Hg. Die Leberarterien wurden unterbunden und die übrigen Viscera entfernt; letzteres deswegen, weil in einigen Vorversuchen die Magenwand nach 1—2 Stunden durch Selbstverdauung perforiert wurde und danach die dicht anliegende Leber angriff. Das ganze Präparat wurde auf einem Wärmetisch angebracht und durch Zudecken gegen Wärmeverlust geschützt, so daß eine Organtemperatur von 37—40° eingehalten wurde. Wir haben Gewicht darauf gelegt, daß kein Blut verloren ging, und um uns zu sichern, daß nichts von dem zugesetzten β-Phenylisopropylamin auf anderm Wege als durch Abbau oder Umbildung verschwinden konnte, wurde in vier von den Versuchen außer der Leber und dem Blute auch der nicht perfundierte Truncus quantitativ auf Gehalt von β-Phenylisopropylamin untersucht. Die hier gefundene Menge ist jedoch immer geringfügig gewesen (Tabelle 1).

Die verwendeten Versuchstiere, alles männliche, die 24 Stunden vor dem Versuch gehungert hatten, wurden mit Äther narkotisiert und starben spontan ungefähr bei Anfang der Perfusion.

Die Ergebnisse von sieben vollständig durchgeführten Versuchen gehen aus der Tabelle 1 hervor.

Man sieht, daß die Kaninchenleber imstande ist, aus 600 mg bis zu 200 mg β-Phenylisopropylaminsulfat im Laufe von 6 Stunden abzubauen. Wenn eine kleinere Menge zum Perfusionsblut zugesetzt wird, verschwindet weniger, aber prozentuell wird ein größerer Teil des zugesetzten Amins abgebaut.

Es soll hier erwähnt werden, daß die Konzentrationsverminderung von β-Phenylisopropylamin im Perfusionsblut, z. B. wenn man mit Zwischenräumen Analysenproben vom Blut nimmt, keineswegs ein Ausdruck der Abbaugeschwindigkeit ist, indem die Konzentration des β-Phenylisopropylamins, auch wenn man die Größe der Wasserphasen berücksichtigt, größer in der Leber als im Blute ist; es scheint, als ob β-Phenylisopropylamin in gewissem Grade zu irgendeiner Substanz in der Leber adsorbiert wird, was ganz mit dem Befund von Erik Jacobsen und Inger Gad übereinstimmt.

Perfusion des isolierten Hinterkörpers.

Nachdem gezeigt war, daß β-Phenylisopropylamin in der Leber angegriffen wurde, war es von Interesse zu untersuchen, ob dieser Prozeß auch in der Skeletmuskulatur vor sich gehen konnte. Dies wurde im isolierten Hinterkörper des Kaninchens untersucht, das mittels desselben Apparates, der bei den Leberversuchen verwendet war, mit Blut perfundiert wurde. Wie von Niels A. Nielsen (4) beschrieben, fand die Infusion bei dem caudalen Ende der Aorta abdominalis statt, und das ablaufende Blut wurde durch Vena cava abdominalis aufgesammelt. Hier schwankte das Minutenvolumen zwischen 12 und 14 ccm und der Perfusionsdruck zwischen 45 bis 73 mm Hg. Der Teil des Kaninchens, der sich über der unteren Grenze

Tabelle 1. Leberperfusionsversuche mit β-Phenylisopropylaminsulfat, zum Perfusionsblut zugesetzt.

Datum des Versuches Gewicht des Kaninchens in g	mg β-Phenylisopropylaminsulfat zum Perfusionsblut zugesetzt	Dauer der Perfusion nach Zusatz des Aminsalzes in Std.	Blut		Leber		β-Phenylisopropylaminsulfat im übrigen Körper des Tieres gefunden	Totale Menge von β-Phenylisopropylaminsulfat nach der Perfusion wiedergefunden mg
			Gewicht in g	Gehalt von β-Phenylisopropylaminsulfat	Gewicht in g	Gehalt von β-Phenylisopropylaminsulfat		
11. I. 1940 2800	10	1	260	0,4 mg 0,15 mg% F. * — **	80	1,0 mg 1,25 mg% F. —	2,1 mg F. —	3,5
8. I. 1940 3000	40	1½	320	11.3 mg 3,5 mg% F. —	82	8,7 mg 10,6 mg% F. —	2,0 mg F. —	22,0
21. III. 1940 3000	100	6	340	20,1 mg 5,9 mg% F. 142°	135	33,1 mg 24,5 mg% F. 140°	—	53,2
7. III. 1939 3000	200	3	375	60,1 mg 16 mg% F. 142—143°	105	56,7 mg 54 mg% F. 141—142°	—	116,8
23. I. 1939 3000	200	5	550	72,7 mg 13,2 mg% F. 139—140°	170	28,0 mg 16,4 mg% F. 142—143°	—	100,7
17. I. 1940 3000	300	4½	295	84,8 mg 28,7 mg% F. 141—142°	110	83,7 mg 76 mg% F. 141—142°	8,9 mg F. 143°	177,4
2. VI. 1939 3000	600	6	365	248 mg 68 mg% F. 140 · 142°	100	132 mg 132 mg% F. 140—142°	18,3 mg F. 139—140°	398,3

· Schmelzpunkt des umkristallisierten Aminpikrates. — ** Mißlungen oder nicht vorgenommen.

der linken Niere befand, wurde vor dem Versuche weggeschnitten. Nach mehrstündiger Perfusion mit Blut, welchem β-Phenylisopropylaminsulfat zugesetzt war, wurde sowohl das Blut wie auch der ganze Hinterkörper auf β-Phenylisopropylamin untersucht. Die Resultate der Versuche gehen aus der Tabelle 2 hervor und zeigen, daß man selbst nach sechsstündiger Perfusion 93% der ursprünglich zum Perfusionsblut zugesetzten β-Phenylisopropylaminmenge wiederfinden kann.

Bei sämtlichen Versuchen wurde die Perfusion nie länger fortgesetzt, als das ablaufende Blut deutlich venös war. Vielmehr war das Präparat gegen Wärmeverlust geschützt. Wenn man hier nur einen unbedeutenden Schwund des zugesetzten Amins findet, kann die Erklärung daher nicht sein, daß die Zellen im perfundierten Gewebe tot sind, was auch unwahrscheinlich ist, da die künstliche Perfusion bei den Hinterkörperversuchen so eingeleitet werden kann, daß die Blutdurchströmung nur wenige Augenblicke unterbrochen zu werden braucht im Gegensatz zu den Leberperfusionsversuchen, wo die Unterbrechung mehrere Minuten dauert.

Da es indessen möglich ist, 100% einer — Geweben oder Organen zugesetzten - Menge von β-Phenylisopropylamin zu finden, und da die gefundenen Zahlen: 85—93% wiedergefundenes Amin, eher zu groß als zu klein sind, muß hieraus geschlossen werden, daß auch andere Gewebe als die Leber imstande sind, β-Phenylisopropylamin zu eliminieren. Dies geht jedoch hier bedeutend langsamer vor sich.

Der Abbau ist kaum wesentlich größer, als es die Zahlen der Tabelle 2 angeben. Im ersten Versuch der Tabelle 2 kann dies mit Sicherheit gesagt werden, indem wir durch Analyse des weggeschnittenen Vorderkörpers des Tieres keine Stoffe gefunden haben, die Reaktion wie β-Phenylisopropylamin gaben. Die im Hinterkörper nach der Perfusion gefundenen 17 mg müssen also fast reines β-Phenylisopropylamin darstellen. Bei den zwei anderen Versuchen, die mit 200 mg durchgeführt wurden, sind die wiedergefundenen Mengen des β-Phenylisopropylamins so groß, daß die unspezifische Reaktion hier fast keine Rolle spielt, insofern als der Blindwert in einem ganzen Kaninchen höchstens etwa 8 mg β-Phenylisopropylaminsulfat entspricht.

Versuche mit eviscerierten Tieren.

Ferner wurden einige andere Versuche durchgeführt, bei denen die Leber vom Kreislauf ausgeschaltet wurde, der übrige Teil des Tieres aber soweit wie möglich intakt gehalten wurde. In diesen Versuchen wurde darauf Gewicht gelegt, daß die Versuchsbedingungen denen der Versuche von Erik Jacobsen und Inger Gad mit urethannarkotisierten, normalen Tieren möglichst ähnlich waren.

Da wir es für technisch zu schwierig hielten, die Leber isoliert auszuschalten, wurde die Leber funktionsunfähig gemacht durch eine Exstirpation von Ventrikel, Pancreas, Milz und Därmen mit Ligatur

Tabelle 2. Hinterkörperperfusionsversuche mit β-Phenylisopropylaminsulfat, zum Perfusionsblut zugesetzt.

Datum des Versuches / Gewicht des Kaninchens in g	mg β-Phenylisopropylaminsulfat zum Perfusionsblut zugesetzt	Dauer der Perfusion nach Zusatz des Aminsalzes in Std.	Blut: Gewicht in g	Blut: β-Phenylisopropylaminsulfatgehalt	Muskulatur: Gewicht in g	Muskulatur: β-Phenylisopropylaminsulfatgehalt	Knochen und Fell: Gewicht in g	Knochen und Fell: β-Phenylisopropylaminsulfatgehalt	Totale Menge von β-Phenylisopropylaminsulfat, nach der Perfusion wiedergefunden mg
15. I. 1940 3200	20	2	320	3,3 mg 1,03 mg% F.* 142–143°	555	8,0 mg 1,44 mg% F. 141–142°	480	5,7 mg 1,19 mg% F. 142–143°	17,0
7. II. 1939 2600	200	5	475	82,1 mg 17,3 mg% F. 140–141,5°	—**	77,5 mg F. 139–140°	—**	22,6 mg F. 140–142°	182,2
31. III. 1939 2900	200	6	285	34,0 mg 11,9 mg% F. 138–139°	473	122,4 mg 25,9 mg% F. 140–142°	415	30,2 mg 7,3 mg% F. 139–140°	186,6

* Schmelzpunkt des umkristallisierten Aminpikrates. — ** Nicht gewogen, aber die ganze Menge wurde behandelt.

der Pfortader und der Leberarterien. Die Versuche sind folgendermaßen ausgeführt: Nach 24 Stunden Hunger wurde das Kaninchen mit Urethan narkotisiert und auf dem Wärmetisch angebracht. Nach Einlage eines Blasenkatheters wurde die obengenannte Exviscerierung vorgenommen. Ein Thermometer wurde mit dem Quecksilberbehälter unter dem Zwerchfell zur Kontrolle der Körpertemperatur angebracht. Abdomen wurde geschlossen und das Tier gut zugedeckt. In die Marginalvene des Ohres wurde nun eine Lösung von β-Phenylisopropylaminsulfat eingespritzt. Mit Zwischenräumen wurde eine 6%ige Glucoselösung intravenös injiziert, die nicht nur die Blutzuckerkonzentration aufrechterhielt, sondern auch die Diurese förderte. Nach Verlauf von einigen Stunden wurde das Tier durch Karotidenöffnung getötet, und in gewöhnlicher Weise wurden Analysen von Geweben, Organen und Harn vorgenommen.

Das Resultat der Versuche ist in Tabelle 3 zusammengestellt.

Wie man sieht, haben wir nach 4 Stunden etwa 75% der injizierten Menge wiedergefunden, indem nur etwa 5 mg verschwunden sind. Es ist auffallend, daß dies viel weniger ist als bei den intakten Tieren, die während $1^1/_2$ Stunden von 20 mg gegebenem β-Phenylisopropylamin etwa 15 mg abbauen. Dies ist nicht dadurch zu erklären, daß die Tiere sehr schwach waren mit niedrigerer Körpertempe-

ratur. Das Thermometer zeigte während der Versuchszeit eine fast normale Körpertemperatur, und bei Ende des Versuches wiesen alle 3 Tiere eine kräftige Herzaktion und eine tiefe und regelmäßige Atmung auf, mit der Tatsache übereinstimmend, daß β-Phenylisopropylamin die Respiration der intakten, urethannarkotisierten Tiere stimuliert.

Man sieht, daß die während der Versuchszeit in den Harn ausgeschiedene Menge β-Phenylisopropylamin nur bei dem dritten Kaninchen bemerkenswert groß ist. Indessen ist sie ziemlich beträchtlich, wenn man die geringfügige Harnmenge berücksichtigt. In einem gleichartigen Versuche, der hier nicht wiedergegeben ist, weil die Organe nicht gleichzeitig analysiert wurden, haben wir 25% des gegebenen Amins im Harn wiedergefunden. Die Harnbildung bei den Tieren mit ausgeschalteter Leber ist jedoch sehr schwankend und hängt vielleicht mit einer kleinen Filtration zusammen, die wahrscheinlich durch einen niedrigen Blutdruck infolge des großen Eingriffs verursacht ist.

Wie zu erwarten war, haben wir nie β-Phenylisopropylamin in der ausgeschalteten Leber gefunden. Bemerkenswert ist, daß wir auch in diesen Versuchen große Konzentrationen in den Nieren und im Zentralnervensystem gefunden haben, entsprechend den Befunden von Erik Jacobsen und Inger Gad, wo man in intakten Kaninchen eine Affinität dieser zwei Organe zu dem β-Phenylisopropylamin gezeigt hat.

Merkwürdigerweise haben wir in keinem der drei Versuche nachweisbare Mengen des Amins im Blute gefunden.

Die Differenz zwischen der injizierten und der wiedergefundenen Menge — von 2 bis etwa 5 mg — gibt die Menge an, die wenigstens während der Versuchszeit abgebaut ist. Hierdurch werden die aus den Hinterkörperperfusionen erzielten Ergebnisse bestätigt, daß auch außerhalb der

Tabelle 3. Gehalt der verschiedenen Gewebe und Organe an β-Phenyl-isopropylaminsulfat

Datum des Versuches / Gewicht des Kaninchens in g	Eingegebene Menge von β-Phenylisopropylaminsulfat in mg	Getötet nach der Injektion Std.	Muskulatur		Blut		Leber	
			Gewicht in g	Amingehalt	Gewicht in g	Amingehalt	Gewicht in g	Amingeh
7. XII. 1939 1915	20	3	660	8,5 mg 1,3 mg% F.* 138—140°	30	0	63	0
20. XII. 1939 2000	20	3	651	8,0 mg 1,2 mg% F. 137—138°	35	0	73	0
28. XII. 1939 2930	20	4	960	6,8 mg 0,7 mg% F. 138—140°	40	0	90	0

* Schmelzpunkt des umkristallisierten Aminpikrates. — ** Mißlungen.

Leber ein Abbau von β-Phenylisopropylamin stattfinden kann, obwohl mit viel geringerer Schnelligkeit als in der Leber.

Diskussion.

Daß die eviscerierten Tiere im Laufe von 6 Stunden unter denselben übrigen Versuchsbedingungen höchstens 5 mg Amin abbauen, also entsprechend der Menge, die das intakte Tier in weniger als $^1/_4$ Stunde abzubauen vermag, zeigt unabstreitbar, daß die Hauptmenge des β-Phenylisopropylamins in den beseitigten Eingeweiden abgebaut wird. Der Einfluß des Darmgewebes kann nicht ausgeschlossen werden, um so weniger, als Blaschko und seine Mitarbeiter (5) beträchtliche Mengen von Aminooxydasen im Darmkanal gefunden haben. Andererseits zeigen unsere Leberperfusions versucheund auch die Versuche, die mit kleineren Konzentrationen von β-Phenylisopropylamin ausgeführt sind, daß die isolierte Leber imstande ist, ungefähr dieselbe Menge β-Phenylisopropylamin wie der totale Organismus in denselben Zeiträumen abzubauen: Von 10 bzw. 40 mg β-Phenylisopropylaminsulfat hat die isolierte Leber in $1-1^1/_2$ Stunden wenigstens 6,5 bzw. 18 mg abgebaut. Ein Kaninchen von 2 kg vermag während 1 Stunde etwa 12 mg β-Phenylisopropylaminsulfat von 20 mg abzubauen, eine Menge, die von derselben Größenordnung ist. Wenn man nun außerdem annehmen muß, daß die Leber bei künstlicher Perfusion nicht eine größere Funktionsfähigkeit wie im intakten Tier besitzt, darf man hieraus schließen, daß die Leber, und zwar die Leber allein, imstande ist, faktisch die Aminmenge abzubauen, die das intakte Tier tatsächlich abbauen kann.

Andererseits geht aus den Hinterkörperperfusionen und den Versuchen mit eviscerierten Tieren hervor, daß auch außerhalb der Leber ein

opylamin (als Sulfat berechnet) nach intravenöser Eingabe von β-Phenyl-iscerierten Kaninchen.

Nieren		Zentralnervensystem		Knochen, Fell und Bindegewebe		Harn		Totale Menge von β-Phenyl-isopropyl-aminsulfat wieder-gefunden mg
e-ht g	Amingehalt	Ge-wicht in g	Amingehalt	Ge-wicht in g	Amingehalt	Menge in ccm	Amingehalt	
7	1,3 mg 7,7 mg% F. 138–140°	13	2,0 mg 15,4 mg% F. 137–139°	641	5,3 mg 0,8 mg% F. 137–139°	4	1,0 mg F. 137–139°	18,1
4	1,4 mg 10,0 mg% F. 137–139°	16	0,7 mg 4,4 mg% F. 139°	672	4,2 mg 0,6 mg% F. 136–138°	12	1,2 mg F: 137–139°	15,5
2	0,7 mg 3,2 mg% F. 138–140°	16	0,2 mg 1,3 mg% F. —**	905	2,5 mg 0,3 mg% F. 138–139°	30	5,1 mg F. 138–140°	15,3

gewisser, wenn auch langsam verlaufender Abbau stattfinden kann. Man muß indessen annehmen, daß der Abbau außerhalb der Leber in der Praxis nur ein geringfügiger ist. Wo dieser sekundäre Abbau stattfindet, ist nicht ganz klar. Die Hinterkörperperfusion zeigt, daß die Muskulatur jedenfalls eine ziemlich große Rolle spielen muß. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, daß auch Organe wie Hirn und Nieren, die in den eviscerierten Tieren gut funktionierten, an dem extravisceralen Abbau teilnehmen.

Konklusion.

Es kann aus den drei Versuchsreihen geschlossen werden, daß der Abbau des β-Phenylisopropylamins im Kaninchenorganismus in der Leber mit einer Geschwindigkeit stattfindet, die den Abbau in dem gesamten übrigen Organismus weit übertrifft. Die Versuche zeigen jedoch, daß dieses Amin auch, obwohl langsam, in anderen Organen als den Viscera abgebaut werden kann.

Zusammenfassung.

Zur Lokalisierung der Abbaustelle des β-Phenylisopropylamins im Kanichennorganismus wurden drei Versuchsreihen ausgeführt, und zwar Leberperfusion, Hinterkörperperfusion und Abbauversuche mit „leberlosen", eviscerierten Tieren.

Die Leberperfusionen zeigen, daß die Leber in 6 Stunden von 600 mg 200 mg und während $1^1/_2$ Stunden von 40 mg 20 mg abzubauen vermag.

Die überlebende Leber zeigt somit eine Abbaufähigkeit hinsichtlich des β-Phenylisopropylamins, die faktisch die gleiche ist wie beim intakten Tier.

In den zwei anderen Versuchsreihen ist die Abbaugeschwindigkeit nur geringfügig, so daß ein eviscerietes Tier in einer 4stündigen Periode von 20 mg nur 5 mg abbauen kann.

Literatur.

1) Jacobsen, Erik, u. Inger Gad: Siehe vorhergehende Arbeit. — 2) Guggenheim, M., u. Wilh. Löffler: Biochem. Z. **72**, 324 (1916). — 3) Gad, Inger: Vorstehende Arbeit. — 4) Nielsen, Niels A.: Skand. Arch. Physiol. (D.) **66**, 50 (1933). — 5) Blaschko, Richter u. Schlossmann: Biochem. J. **31**, 2187 (1937).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg/Lahn.

Allergie und vegetatives Nervensystem*.

Von

Fritz Heim.

Mit 6 Textabbildungen (27 Einzelkurven).

(Eingegangen am 16. Juni 1940.)

Wir kennen eine Reihe von Krankheiten, die trotz ihrer Vielheit und klinischen Vielgestaltigkeit eine gemeinsame Ursache haben können, die Allergie. Zu den allergischen Krankheiten zählt man, nur um die wichtigsten zu nennen, das Ekzem, die Nesselsucht, die Serumkrankheit, das Asthma bronchiale, bestimmte Formen des Kreislaufschocks, der paroxysmalen Tachycardie und Arrhythmie, bestimmte Formen gastrointestinaler Störungen, Migräne, Epilepsie, Arthritiden und Stoffwechselstörungen. Auch das Rheuma und die Infektionskrankheiten sind heute ebenfalls als allergiemitbedingte Erkrankungen anzusehen. Die Allergie kann man nach H. Schmidt[1] kurz als eine spezifische Zellumstimmung bezeichnen. Die allergischen Krankheiten sind als die Summe der Folgezustände der an den Körperzellen sich abspielenden Antikörper-Antigenreaktionen aufzufassen. Die Allergie, soweit es sich um in das Gebiet der Serologie gehörende Fragen handelt, ist heute schon weitgehend erforscht. Auch die geweblichen Äußerungen der Allergie, d. h. die Natur der funktionellen und organischen Zellveränderungen, die die klinischen Krankheitssymptome hervorrufen, lassen sich heute schon auf wenige Grundvorgänge zurückführen. Soweit es sich um organische Veränderungen handelt, ist vor allen Dingen das Gefäßbindegewebe davon betroffen, das mit Entzündung, Verquellung und Permeabilitätsstörungen reagiert. Die funktionellen Störungen äußern sich vor allem in Tonusstörungen der kontraktilen Elemente der glattmuskeligen Organe, wie z. B. der Gefäße, der Bronchien, des Herzmuskels und des Magen-Darmtraktus, nur um die meist befallenen Organe zu nennen.

Nun wissen wir, daß die jeweilige Tonuslage der kontraktilen Elemente des Gefäßsystems und der glattmuskeligen Organe vom vegetativen Nervensystem gesteuert wird, wobei der Sympathicus und der Parasympathicus bzw. Vagus den Tonus eines jeden Organs im entgegengesetzten Sinne beeinflussen. Wenn wir die bei der Allergie zu beobachtenden Tonusstörungen am Gefäßsystem und an den verschiedenen mit glatter Muskulatur ausgestatteten Organen unter dem Gesichtspunkt der nervösen, d. h.

* Die Arbeit wurde ausgeführt mit Mitteln der Gräfin Bose-Stiftung und des Roche Fonds der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

[1] Verh. dtsch. path. Ges. S. 37 (1937).

vom vegetativen Nervensystem besorgten Steuerung betrachten, so können wir diese Tonusstörungen sämtlich als die Folge eines verstärkten Vagus-einflusses auffassen. So sehen wir beim allergischen Kreislaufschock als Folge einer verstärkten Vaguswirkung das Nachlassen des Tonus der kontraktilen Elemente des arteriellen Gefäßsystems. Beim Bronchialasthma ruft die verstärkte Vaguswirkung eine Zunahme des Tonus der Bronchialmuskulatur hervor und führt somit zum Bronchospasmus. Ebenso beruhen die im Gebiet des Magen-Darmtraktus auftretenden allergiebedingten Störungen, wie z. B. Erbrechen, Diarrhoen, Sekretionsstörungen und Koliken auf einem gesteigerten Vagustonus. Doch auch die als allergische Krankheitssymptome zu beobachtenden katarrhalischen Entzündungen der Nasen-, Rachen- und Bronchialschleimhäute, der Magen- und Darmschleimhaut und der Konjunctiven können als Folgezustände eines pathologisch gesteigerten Vagustonus angesehen werden. Denn diese Entzündungsprozesse sind, wie jede katarrhalische Schleimhautentzündung, begleitet von einer maximalen Gefäßerweiterung, die einhergeht mit einem durch die erhöhte Permeabilität der Kapillarwände geförderten vermehrten Austritt seröser Flüssigkeit und einer gesteigerten sekretorischen Tätigkeit der Drüsenzellen der betroffenen Schleimhäute. Gefäßerweiterung, Permeabilitätssteigerung und gesteigerte Sekretion sind aber wiederum Funktionsänderungen, die sehr wahrscheinlich auf einen gesteigerten Einfluß des Vagus zurückzuführen sind. Auf Grund dieser Tatsachen kommt man zu dem Schluß, daß die für die verschiedenen allergischen Krankheitsbilder charakteristischen funktionellen Störungen vor allem an den glattmuskeligen Organen als die unmittelbare Folge einer Störung ihrer vegetativen Innervation zustande kommen. Die Allergie wäre demnach als spezifische Zellumstimmung gegenüber vegetativen Nervenreizen zu betrachten, wobei eine besondere Ansprechbarkeit der Körperzellen gegenüber Parasympathicus- bzw. Vagusreizen vorherrscht. Da, wie wir sehen werden, diese Änderung in der Ansprechbarkeit der Zellen vegetativ innervierter Organe und Organsysteme an sensibilisierten Tieren erst nach der Reinjektion des sensibilisierenden Antigens eintritt, so darf sie, begrifflich genau genommen, nicht als die Folge der Allergie bezeichnet werden, sondern muß als die Folge der an den Körperzellen sich abspielenden Antikörper-Antigenreaktionen aufgefaßt werden.

Es soll nun im folgenden versucht werden, für diese Vorstellung vom Wesen der Allergie experimentelle Grundlagen zu geben.

Methodik.

Die Versuche wurden an Katzen durchgeführt. Die Sensibilisierung der Tiere geschah durch intramuskuläre Injektion von 2,5 ccm artfremden Serums. Die Versuche selbst wurden in Chloralosenarkose durchgeführt. Die Tiere erhielten 80—90 mg Chloralose pro kg Körpergewicht. Die Serum-

reinjektion während des Versuchs geschah immer intravenös in die Vena jugularis. Zur Vagusreizung wurden die beiden Vagi am Hals frei präpariert und Reizelektroden angelegt. Es wurden zur Reizung Wechselströme benutzt, die in einem Schwingungskreis erzeugt wurden. Die Frequenz der Wechselströme betrug stets 40 Hertz, da Rein[2] und Vogt[3] und Gremels[5] in ihren Versuchen Frequenzen zwischen 30 und 50 Hertz als optimal zur Reizung vegetativer Nerven gefunden haben. Die Spannung im Reizstromkreis betrug stets 4 Volt. Die Reizintensität umfaßte einen Bereich von 0,025—10,0 Milliamp. Sie konnte während des Versuchs fortlaufend gemessen werden. Um nicht fehlerhafte Resultate bei Bestimmung der Reizintensität zu erhalten, muß, wenn das Tier auf ein metallenes, heizbares Tierbrett aufgespannt wird, das Tierbrett über einen Kondensator geerdet werden.

Die Blutdruckmessung geschah mittels eines mit der Arteria femoralis verbundenen Quecksilbermanometers. Zur Verhinderung der Gerinnung wurde die Trendelenburgsche Gegenstrominfusion mit 6 %iger Natriumcarbonatlösung angewandt. Zur Bestimmung der Herzfrequenz wurde der Thorax des durch eine Starling-Pumpe künstlich beatmeten Tieres in der Mitte eröffnet und nach Freilegung des Herzens das rechte Herzohr mit einem von Fleisch[4] angegebenen Ordinatenschreiber verbunden. Durch diesen Apparat werden Zeitintervalle — in unseren Versuchen das Zeitintervall zwischen zwei Vorhofsystolen — als Ordinaten aufgezeichnet. In unseren Versuchen entspricht 1 mm Ordinatenhöhe dem Zeitintervall von $^1/_{50}$ bzw. $^1/_{100}$ Sekunde. Zur Übertragung der Vorhofsbewegungen auf den Fleischschen Ordinatenzeitschreiber wurde ein von H. Gremels[5] zu diesem Zweck konstruierter Kontakthebel benutzt.

Zur Bestimmung des O_2-Fassungsvermögens der Atemwege wurden die Tiere mittels einer Starling-Pumpe beatmet, deren jeweiliger Pumpenhub in ccm O_2 genau bekannt war. An die in die Trachea eingebundene Glaskanüle wurde seitlich ein weitrohriges Wassermanometer angeschlossen, das auf ccm O_2 geeicht war. Die Differenz zwischen dem Pumpenhub und den Manometerausschlägen in ccm O_2 entsprach dem jeweiligen Sauerstoffassungsvermögen der Atemwege. Außerdem konnte an den Ausschlägen dieses Manometers der jeweilige intratracheale Druck in mm H_2O abgelesen werden. Der Druck im rechten Pleuraraum wurde durch ein Wassermanometer laufend registriert.

Die Stoffwechseluntersuchungen wurden an Spinaltieren durchgeführt mit der von Gremels[6] benutzten Gesamtmethode, wobei der O_2-Verbrauch der Spinaltiere nach dem Kroghschen Verfahren gemessen wurde. Der Blutzucker wurde nach der Methode von Hagedorn-Jensen bestimmt.

[2] Z. Biol. **92**, 115 (1931). — [3] Jb. Psychol. u. Neurol. **45**, 298, (1933). — [4] Z. exper. Med. **72**, 384 (1930). — [5] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935). — [6] Ebenda **182**, 1 (1936); ebenda **188**, 79 (1937); ebenda **194**, 629 (1940).

Versuche.

Es wurde bereits einleitend darauf hingewiesen, daß es sich bei der Allergie um eine spezifische Umstimmung des ganzen Organismus handelt, d. h. daß es an allen Körperzellen zur Antikörper-Antigenreaktion kommen kann, und somit alle Körperzellen die sich daraus ergebende mögliche Änderung ihrer Ansprechbarkeit gegenüber vegetativ-nervösen Reizen erfahren können. Es erschien deshalb notwendig, möglichst viel vom vegetativen Nervensystem innervierte Organe vor und im Zustand der Allergie, d. h. nach Ablauf der Antikörper-Antigenreaktion auf ihre Ansprechbarkeit vegetativen Nervenreizen gegenüber zu untersuchen. Da beim Zustandekommen der klinisch-allergischen Krankheitssymptome dem N. Vagus eine ganz besondere Rolle zuzukommen scheint, so haben wir unsere Untersuchungen im wesentlichen auf diesen Teil des vegetativen Nervensystems beschränkt. Es wurde der Einfluß des Vagus auf die Herzfrequenz, auf den Tonus des arteriellen Systems, auf den Tonus der Bronchialmuskulatur, auf den Gesamtstoffwechsel und auf den Kohlehydratstoffwechsel untersucht. Während allgemein bekannt ist, daß der Vagus die Herzfrequenz verlangsamt, das Gefäßsystem erweitert und die Bronchien verengt, ist die Kenntnis von der stoffwechselsteuernden Funktion des vegetativen Nervensystems noch jüngeren Datums. Durch die grundlegenden Untersuchungen von H. Gremels[6] konnte gezeigt werden, daß der N. Vagus bzw. der chemische Überträgerstoff der Vaguswirkung, das Azetylcholin, auf den Zellstoffwechsel im assimilatorischen Sinne wirken.

Nach den Untersuchungen von Adrian[7] werden im Vaguszentrum ununterbrochen Reize gebildet, die den Nerv nach der Peripherie hin durchlaufen und die Zellen der vom Vagus versorgten Organe in einem dauernden Erregungszustand halten. Diesen Dauererregungszustand bezeichnet man auch als Vagustonus. Die Höhe des Vagustonus hängt somit ab 1. von dem Tätigkeitszustand des Vaguszentrums, also von der Zahl und von der Stärke der vom Vaguszentrum ausgehenden Erregungsimpulse und 2. von der Ansprechbarkeit der peripheren Erfolgsorganzellen gegenüber diesen Vagusreizen. Da wir vorläufig noch nicht wissen, ob durch die Allergie der Tätigkeitszustand des Vaguszentrums beeinflußt wird, so müssen Messungen, die Aufschluß geben sollen über Änderungen der Erregbarkeit der Erfolgsorganzellen gegenüber Vagusreizen so durchgeführt werden, daß nach Durchschneidung des N. Vagus, d. h. nach Ausschaltung des Vaguszentrums, der periphere zum Erfolgsorgan hinziehende Stumpf des N. Vagus gereizt wird. Denn wird nun die periphere Erfolgsorganzelle durch elektrische Reizung des zu ihr hinziehenden Vagusstumpfes erregt, so ist das Ausmaß der Wirkung am Erfolgsorgan ein direktes Maß für den Grad seiner Erregbarkeit. Die elektrische Reizung des undurchschnittenen Vagus dagegen gibt Aufschluß über Änderungen in der Höhe des physiologi-

[7] J. Physiol. (Brit.) **74**, 115 (1932).

schen Vagustonus. Denn, wie wir bereits sagten, durchlaufen den Vagus vom Zentrum herkommende Erregungsimpulse, die das Erfolgsorgan in einem von der Zahl und Stärke der Erregungsimpulse abhängigen Dauererregungszustand halten. Nun ist bekanntlich die Erregbarkeit einer Zelle in hohem Maße abhängig von dem im Augenblick der Reizung bestehenden Erregungszustand. Im unerregten Zustand spricht die Zelle auf einen Reiz am stärksten an, während sie im Zustand maximaler Erregung einen Reiz gleicher Stärke kaum oder überhaupt nicht beantwortet. Bei elektrischer Reizung des undurchschnittenen Vagus wird der Grad des Reizerfolges deshalb vom jeweiligen physiologischen Erregungszustand des Erfolgsorgans, d. h. von der Höhe des bestehenden Vagustonus abhängig sein. Deshalb ist erfahrungsgemäß der Reizerfolg bei elektrischer Reizung des intakten Vagus bei sehr niedrigem physiologischen Vagustonus groß und nimmt mit zunehmendem physiologischen Vagustonus trotz gleichbleibender Reizstärke ab. So konnte z. B. H. Gremels[5] durch Narkotica den Tätigkeitszustand des Vaguszentrums und damit den Vagustonus herabsetzen. Reizintensitäten, die vor der Injektion der Narkotica am intakten Vagus unterschwellig waren, hatten, solange der Vagustonus herabgesetzt war, eine Wirkung auf das Erfolgsorgan. Den umgekehrten Zustand erreichte er[9] dadurch, daß er durch eine „organnahe" intraarterielle Azetylcholindauerinfusion eine starke Erregbarkeitssteigerung des Vaguszentrums hervorrief, der sowohl an der Abnahme der Erregbarkeit der undurchschnittenen Vagi gegenüber elektrischen „Zusatzreizen" als auch an der zunehmenden Spontanbradycardie und der Abnahme der Adrenalinwirkung erkannt werden konnte. Zinnitz[10] konnte zeigen, daß die blutdrucksenkende Wirkung gleicher Azetylcholinmengen abhängig ist von der Höhe des Ausgangsblutdrucks, d. h. von dem Verhältnis des Sympathicustonus zum Vagustonus. Je niedriger der Vagustonus, um so stärker war die blutdrucksenkende Wirkung des Überträgerstoffs Azetylcholin, je höher der Vagustonus, um so geringer dessen blutdrucksenkende Wirkung.

Hinsichtlich der Überträgerstoffe kommt Gremels[8] zu der Ansicht, „daß man, vom Potentialwirkungscharakter des Azetylcholins und Adrenalins ausgehend, in der Lage ist, aus dem Reaktionsablauf zugeführten Azetylcholins und Adrenalins Schlüsse qualitativer und quantitativer Art auf den Anteil des Vagus bzw. Sympathicus an einer vegetativ gesteuerten Funktion zu ziehen". Damit gewinnen sowohl der elektrische Reiz am intakten und durchschnittenen Nerven sowie die Überträgerstoffwirkung den Charakter von Prüfmethoden der vegetativen Tonuslage.

Betrachten wir uns nun den in Abb. 1 wiedergegebenen Versuch. $1^1/_2$ Stunden vor Beginn des Versuchs wurde der rechte Vagus am Hals durchschnitten und die Reizelektroden am peripheren rechten Vagusstumpf angelegt. Ebenso wurden am linken intakten Vagus Reizelektroden

[8] Erg. Physiol. usw. **42**, 53 (1939). — [9] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 1 (1937). — [10] Ebenda **188**, 328 (1938).

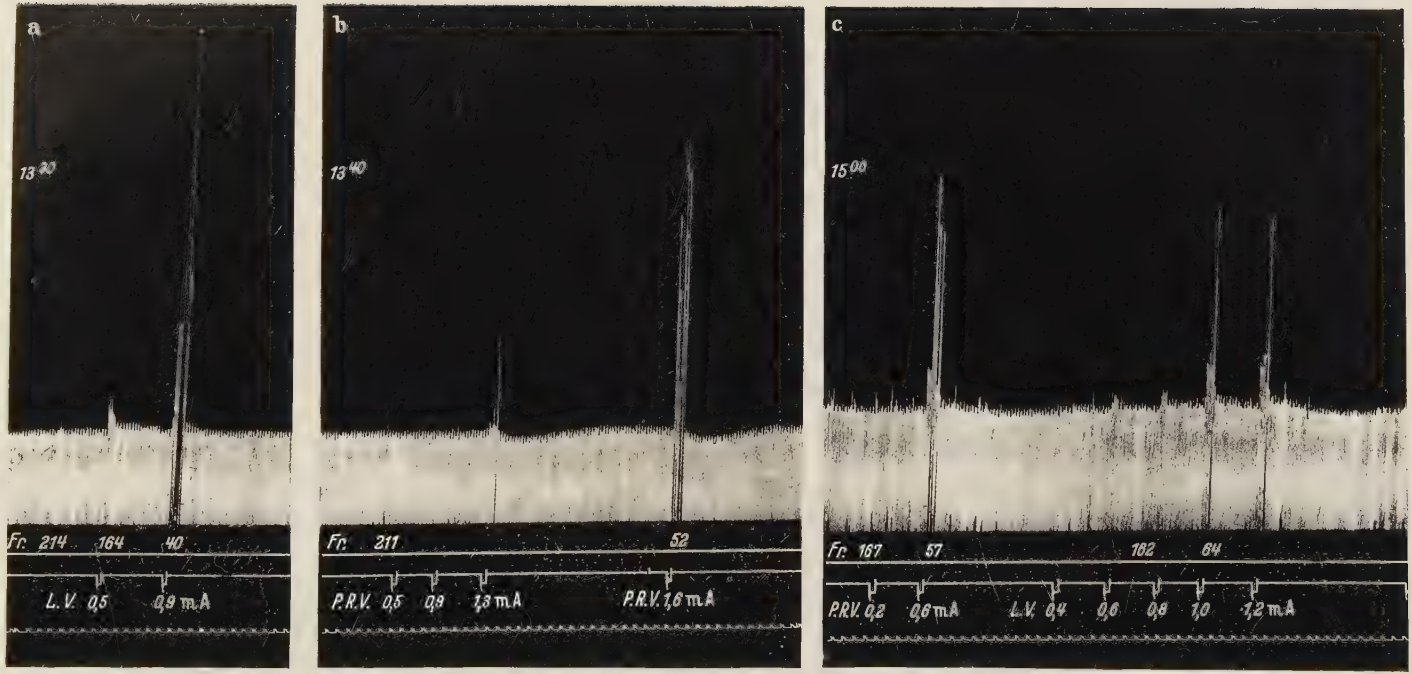


Abb. 1. a—c. 4. IV. 1939, Katze 2400 g. 90 mg Chloralose pro kg. Am 18. III. 1939 2,5 ccm Hundeserum i. m.

angebracht. Abb. 1a und 1b zeigen die Wirkung elektrischer Reize am intakten linken Vagus und am peripheren rechten Vagusstumpf vor der

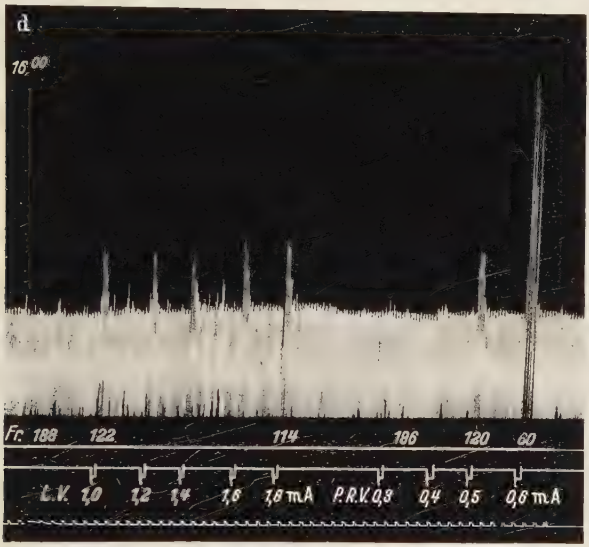


Abb. 1d. Fortsetzung des Versuches vom 4. IV. 1939.

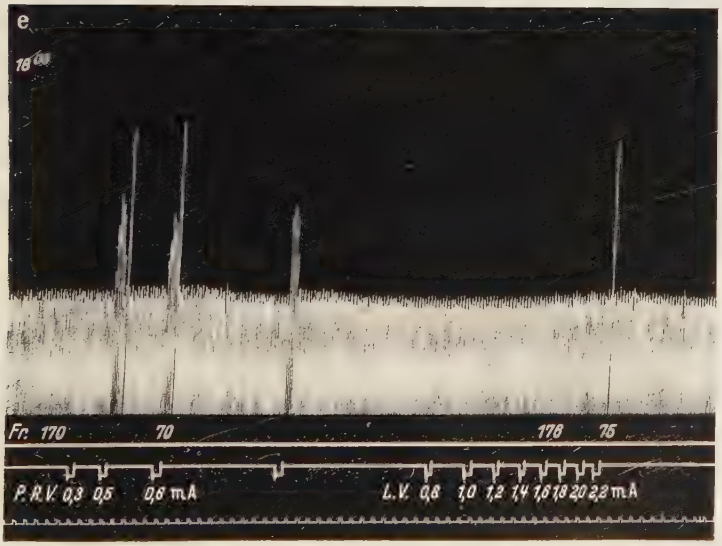


Abb. 1e. Fortsetzung des Versuches vom 4. IV. 1939.

Serumreinjektion. Am linken undurchschnittenen Vagus führt ein elektrischer Zusatzreiz von 0,5 mA zu einer Abnahme der Vorhofsfrequenz um 23 %. Ein Reiz von 0,9 mA hat schon eine starke Wirkung. Er senkt die

Vorhofsfrequenz um 81 %. Bei Reizung des peripheren rechten Vagusstumpfes ist ein Reiz von 1,3 mA eben wirksam. Ein etwas stärkerer Reiz von 1,6 mA hat schon eine längere und stärkere Wirkung. Er senkt die Vorhofsfrequenz von 211 auf 52 Systolen in der Minute, d. h. um 76 %. Um 14,30 werden 0,15 ccm/kg des zur Sensibilisierung verwandten artfremden Serums intravenös injiziert. Aus der Abb. 2c, die die Verhältnisse 30 Minuten nach der Serumreinjektion wiedergibt, ersieht man, daß bei Reizung des linken undurchschnittenen Vagus dessen Reizschwelle noch bei etwa 0,5 mA liegt. Während aber vor der Serumreinjektion ein zusätzlicher Reiz von 0,9 mA die Vorhofsfrequenz um 81 % herabsetzte, bewirkt jetzt ein sogar um 10 % stärkerer Reiz eine Frequenzabnahme von nur

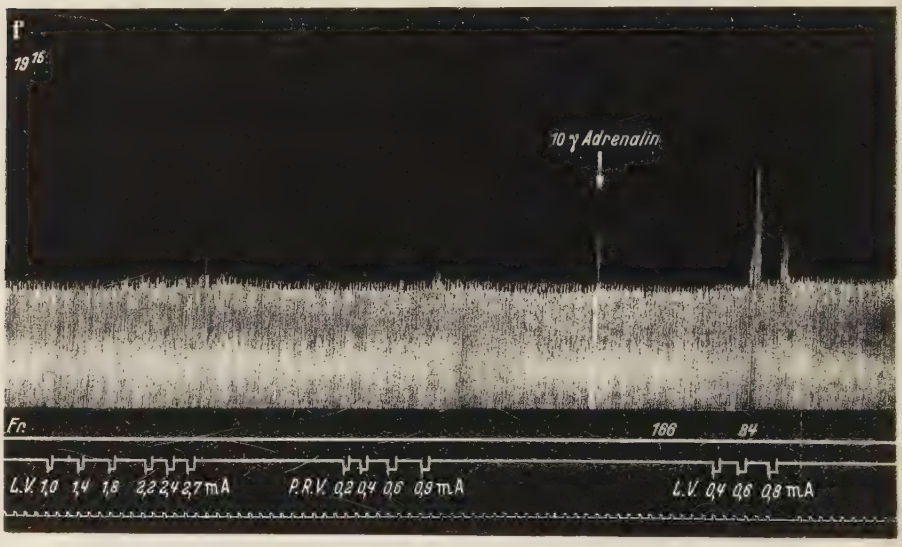


Abb. 1f. Fortsetzung des Versuches vom 4. IV. 1939.

60 %. Wir sehen also am intakten linken Vagus bereits nach 30 Minuten eine Abnahme des Reizerfolgs. In gerade entgegengesetztem Sinne hat sich nach der Serumreinjektion die Erregbarkeit von seiten des rechten peripheren Vagusstumpfes geändert. Während vor der Reinjektion die Reizschwelle bei 1,3 mA lag und erst mit 1,6 mA eine stärkere Vaguswirkung auf die Vorhofsfrequenz zu erzielen war, genügt jetzt ein Reiz von 0,6 mA um die Frequenz um 66 % herabzusetzen. $1^1/_2$ Stunden nach der Serumreinjektion (Abb. 1d) ist in der Erregbarkeit des rechten Vorhofs vom peripheren rechten Vagusstumpf her keine Änderung eingetreten. Bei Reizung des intakten linken Vagus dagegen zeigt sich, daß bei Reizung mit 1,0 mA die Frequenzabnahme nur noch 35 % beträgt. Durch höhere Reizintensitäten — bis zu 1,8 mA — kann der Reizerfolg nicht weiter gesteigert werden. $3^1/_2$ Stunden nach der Serumreinjektion (Abb. 1e)

erhält man bei Reizung des rechten peripheren Vagusstumpfes mit 0,6 mA eine Frequenzabnahme von 59 %, während sie 2 Stunden vorher bei gleicher Reizstärke noch 69 % betrug. Die Erregbarkeit von seiten des peripheren rechten Vagusstumpfes ist also in der vierten Stunde nach der Serumreinjektion im Abnehmen begriffen. Am intakten linken Vagus bleiben jetzt — $3^1/_2$ Stunden nach der Serumreinjektion – Reize von 0,8—2,0 mA vollkommen wirkungslos, und erst ein Reiz von 2,0 mA führt zu einer Frequenzabnahme, die allerdings von so kurzer Dauer ist, daß sie sich, wie aus der Abbildung hervorgeht, nur auf eine einzige Systole erstreckt. Wenn wir die Änderungen der Erregbarkeit des intakten Vagus und des peripheren Vagusstumpfes weiter verfolgen, so sehen wir aus Abb. 1f, daß 4 Stunden 45 Minuten nach der Serumreinjektion am linken intakten Vagus elektrische Zusatzreize von 1,0—2,7 mA völlig wirkungslos bleiben und bei 2,7 mA ein eben noch erkennbarer Reizerfolg eintritt. Auch die

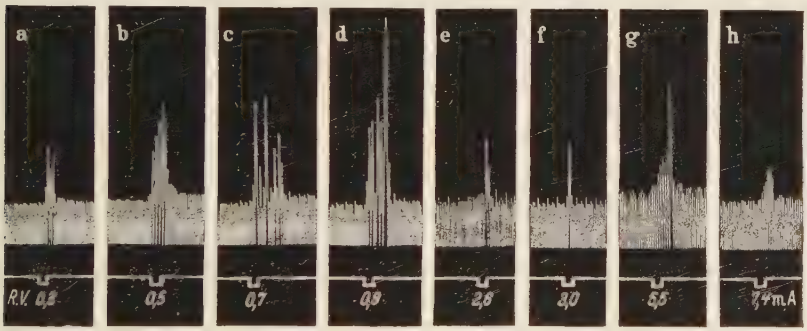


Abb. 2. a—h.
10. II. 1939, Katze 2000 g. 90 mg Chloralose pro kg. Am 20. I. 1939 2,5 ccm Hundeserum i. m.

Erregbarkeit von seiten des peripheren rechten Vagusstumpfes hat sehr abgenommen. Ein Reiz von 0,6 mA bleibt ohne Erfolg und mit einem Reiz von 0,9 mA wird soeben die Reizschwelle erreicht. Beachtenswert ist in Abb. 1f noch, daß nach einer intravenösen Injektion von 10 γ Adrenalin die Reizschwelle am intakten linken Vagus so weit herabgesetzt ist, daß ein Reiz von 0,6 mA eine Frequenzabnahme um 49 % bewirkt.

Bevor wir die Ergebnisse dieses Versuches eingehender betrachten, soll noch ein zweiter Versuch besprochen werden, aus dem hervorgeht, in welch kurzer Zeit und zu welcher Stärke sich nach Auslösung der Antikörper-Antigenreaktion im sensibilisierten Organismus der physiologische Vagustonus entwickeln kann. In diesem Versuch wurde keiner der beiden Vagi durchschnitten und nur der rechte Vagus gereizt. Wir sehen aus Abb. 2a, daß eine 3 Sekunden dauernde Reizung des rechten Vagus mit 0,3 mA die Frequenz des Vorhofs von 273 auf 120 Systolen in der Minute d. h. um 56 % herabsetzt. Ein Reiz von 0,5 mA (Abb. 2b) vermindert die Frequenz um 69,5 %; ein Reiz von 0,7 mA (Abb. 2c) um 71 % und

ein Reiz von 0,9 mA (Abb. 2d) um 83 %. Die Frequenz geht also von 286 auf 50 Systolen in der Minute zurück. Aus den Abb. 2a—2d geht noch hervor, daß die Dauer der durch die Reizung hervorgerufenen Frequenzverminderung mit der Stärke der angewandten Reizintensitäten zunimmt. Nun wurden dem Versuchstier 0,125 ccm pro kg des artfremden Serums intravenös injiziert, mit dem es 3 Wochen vorher sensibilisiert wurde. 30 Minuten nach der Serumreinjektion wurde der Vagus erneut gereizt. Reizintensitäten bis 2,6 mA hatten auf die Vorhofsfrequenz überhaupt keinen Einfluß. Erst ein Reiz von 2,6 mA hat — wie aus der Abb. 2e hervorgeht — eben eine Wirkung, indem er die Frequenz — aber nur für die Dauer von 2 Systolen — um 57 % herabsetzt. Es ist also bereits 30 Minuten nach der Serumreinjektion ein Reiz von nahezu der 7fachen Stärke nötig hinsichtlich seiner Wirkung auf die Vorhofsfrequenz. Dabei ist die Dauer seiner Wirkung kürzer. 60 Minuten nach der Serumreinjektion (Abb. 2f) ist ein elektrischer Reiz von 3,0 mA nötig, um eben eine sich nur auf eine einzige Systole beschränkende Frequenzverminderung zu erzielen. 1 Stunde später (Abb. 2g) erreicht man mit 5,5 mA eine Frequenzverminderung gleichen Grades wie vor der Serumreinjektion mit 0,5 mA. Nach weiteren 30 Minuten kann mit einem Reiz von 7,4 mA eben noch eine Abnahme der Vorhofsfrequenz erzielt werden. Sie vermindert sich dabei um 38 %. Nach weiteren 30 Minuten bleibt auch ein Reiz von 7,4 mA unterschwellig. Zu bemerken ist noch, daß die Serumreinjektion als solche keine unmittelbare Wirkung auf die Frequenz des Vorhofs in diesem Versuch ausgeübt hat. Dieser Versuch zeigt uns, daß an einem mit artfremdem Serum vorbehandelten Tier nach intravenöser Reinjektion des spezifischen Allergens bei Reizung des intakten Vagus eine ganz enorme Abnahme der Erregbarkeit des Erfolgsorgans gegenüber diesen elektrischen Zusatzreizen zu beobachten ist. Die Erregbarkeit des rechten Vorhofs war bereits 30 Minuten nach der Serumreinjektion auf $^1/_7$, 60 Minuten danach auf $^1/_{10}$ und 2 Stunden 30 Minuten nach der Serumreinjektion auf $^1/_{24}$ der normalen herabgesunken.

Wenn wir uns nun wieder dem in Abb. 1 wiedergegebenen Versuch zuwenden, so konnte dort bei Reizung des peripheren Vagusstumpfes nach der Serumreinjektion eine zunehmende Erregbarkeitssteigerung des rechten Vorhofs festgestellt werden. Diese Erregbarkeitssteigerung hielt jedoch nur 2 Stunden an und nahm nach der dritten Stunde wieder ab. Demgegenüber konnte sowohl durch den in Abb. 1 als auch in Abb. 2 wiedergegebenen Versuch gezeigt werden, daß bei Reizung des intakten Vagus schon 30 Minuten nach der Serumreinjektion die Erregbarkeit des rechten Vorhofs geringer war als zuvor. Diese Erregbarkeitsabnahme gegenüber elektrischen Zusatzreizen am undurchschnittenen Vagus nimmt im Verlauf von mehreren Stunden weiter beträchtlich zu. In Abb. 2 haben wir gesehen, daß bereits 2 Stunden 30 Minuten nach der Serumreinjektion zur Erzielung eines gleichen Reizerfolges ein 24mal stärkerer elektrischer

Zusatzreiz am intakten Vagus nötig war. Bei dem in Abb. 1 wiedergegebenen Versuch mußte zur Erzielung eines gleichen Reizerfolgs 4 Stunden 45 Minuten nach der Serumreinjektion ein $5^1/_2$mal stärkerer elektrischer Zusatzreiz am intakten Vagus angewandt werden. Die Änderungen des Reizerfolgs bei Reizung des peripheren Vagusstumpfes beweisen, daß die Zelle des Erfolgsorgans durch die Auslösung der Antikörper-Antigenreaktion in den Zustand gesteigerter Erregbarkeit gegenüber Vagusreizen versetzt wurde. Diese Erregbarkeitssteigerung besitzt die Zelle natürlich nicht nur gegenüber elektrischen Reizen, sondern bei Unversehrtheit des Vagus auch gegenüber den physiologischen, vom Vaguszentrum ausgehenden Erregungsimpulsen, so daß durch die Antikörper-Antigenreaktion — auch ohne Änderung des Tätigkeitszustandes des Vaguszentrums — das mit dem Vaguszentrum in nervöser Verbindung stehende Erfolgsorgan in einen gesteigerten Erregungszustand versetzt wird. Diese Zunahme des Erregungszustandes der Erfolgsorganzelle wird allgemein auch als Steigerung des Vagustonus bezeichnet. Für die Tatsache, daß nach Auslösung der Antikörper-Antigenreaktion die Körperzellen in den Zustand gesteigerter Vaguserregbarkeit versetzt werden, spricht noch der in Abb. 2f erhobene Befund. Es wurde schon darauf hingewiesen, daß nach Injektion von 10 γ Adrenalin die Reizschwelle am intakten Vagus, die wenige Minuten vor der Adrenalininjektion noch bei 2,7 mA lag, 40 Sekunden nach der Adrenalininjektion auf unter 0,6 mA herabsank. Das Adrenalin ist bekanntlich der Überträgerstoff der Sympathicuswirkung und setzt als dem Vagus gegenüber antagonistisch wirkende Substanz die Vaguserregbarkeit in der Peripherie, d. h. in der Zelle des Erfolgsorgans herab. Ist der Erregungszustand einer Zelle aber herabgesetzt, so spricht sie in diesem Augenblick auf einen Reiz wieder stärker an. Es bleibt noch die Tatsache zu erklären, daß die Erregbarkeit des rechten Vorhofs gegenüber den vom peripheren Vagusstumpf kommenden Reizen 3 Stunden nach der Serumreinjektion wieder abnahm. Da rechter und linker Vagus nicht zwei voneinander getrennte Systeme sind, sondern in der Peripherie ihre Endigungen sowohl anatomisch als auch funktionell eine Einheit bilden, so wirkt sich die Steigerung des Erregungszustandes der Erfolgsorganzelle mit der Zeit darin aus, daß sie auch vom peripheren Vagusstumpf kommenden Reizen gegenüber weniger ansprechbar wird.

Ob die Zunahme des Vagustonus in der Allergie allein auf die Erregbarkeitssteigerung der Erfolgsorganzelle zurückzuführen ist, oder ob auch eine gleichzeitige, durch die Antikörper-Antigenreaktion gleichfalls hervorgerufene Zunahme des Tätigkeitszustandes des Vaguszentrums als Ursache für die enorme Steigerung des Vagustonus angenommen werden muß, läßt sich auf Grund unserer bisherigen Beobachtungen noch nicht entscheiden. Doch spricht die Tatsache, daß die Erregbarkeit der Erfolgsorganzelle — gemessen an der Abnahme der notwendigen Reizintensitäten bei Reizung des peripheren Vagusstumpfes — nicht in dem Grade zu-

genommen hat, in dem der Vagustonus angestiegen ist, dafür, daß neben der Erregbarkeitssteigerung der peripheren Organzelle gleichzeitig das Vaguszentrum in den Zustand gesteigerter Tätigkeit versetzt worden ist, so daß wir als Ursache für die enorme Zunahme des Vagustonus in der Allergie neben der peripheren Erregbarkeitssteigerung auch eine zentrale annehmen müssen. Sie könnte auch aus Versuchen von Gremels[9] verstanden werden, der wahrscheinlich gemacht hat, daß auch die zentripetale Übertragung der Vaguserregung durch den Überträgerstoff Azetylcholin zustande kommt. Wenn sich also an den Organzellen des Vaguszentrums ähnliche Vorgänge abspielen wie in der Peripherie, so müßte das zwangsläufig zu einer Funktionssteigerung führen. Für eine Steigerung des Tätigkeitszustandes des Vaguszentrums in der Allergie sprechen die Befunde des nächsten Versuchs.

Dem N. Vagus kommt bekanntlich ein großer Einfluß auf die Höhe des arteriellen Druckes zu. Reizung des intakten Vagus oder nach Durchschneidung Reizung des peripheren Vagusstumpfes, führen im Tierversuch zur Blutdrucksenkung, die im wesentlichen als die Folge einer durch die Vagusreizung hervorgerufenen Erweiterung der Eingeweidegefäße aufzufassen ist. Da es aber bei der Vagusreizung über die N. cardiaci auch zu einer Abnahme der Frequenz und Stärke der Herzkontraktionen kommt, ist die bei Vagusreizung zu beobachtende Blutdrucksenkung nicht allein auf die Gefäßerweiterung, sondern zum Teil auf eine gleichzeitige Abnahme des Schlag- und Minutenvolumens zurückzuführen. Nicht nur die elektrische Reizung des intakten Vagus oder des peripheren Vagusstumpfes, sondern auch Reizung des zentralen Vagusstumpfes führt im Tierversuch zur Blutdrucksenkung, denn im N. Vagus verlaufen zentripetale Nervenfasern zum Vaguszentrum hin, bei deren Reizung es zur Erregung des Vaguszentrums kommt. Vom Vaguszentrum ausgehende Erregungsimpulse rufen dann durch Gefäßerweiterung eine Blutdrucksenkung hervor. Die Tatsache, daß bei Reizung des zentralen Vagusstumpfes der Reiz nicht direkt zum Erfolgsorgan gelangt, sondern auf dem Wege über afferente Nervenfasern das Vaguszentrum erregt und vom Vaguszentrum ausgehende Erregungsimpulse eine Erregung und somit Funktionsänderung des Erfolgsorgans hervorrufen, kann dazu benutzt werden, gewisse Aufschlüsse über die Erregbarkeit des Vaguszentrums vor und nach Auslösung der Antikörper-Antigenreaktionen zu erhalten. Bei den in Tabelle 1 wiedergegebenen Versuchsergebnissen handelt es sich um einen Versuch, bei dem der rechte Vagus durchgeschnitten und dessen zentraler Stumpf nach der üblichen Methode elektrisch gereizt wurde. Es wurden Reizintensitäten angewandt von 0,025—0,2 mA. Die Änderung des arteriellen Druckes wurde mittels eines mit der Arteria femoralis verbundenen Quecksilbermanometers registriert. Aus dieser Tabelle geht hervor, daß 60 Minuten nach der Reinjektion des zur Sensibilisierung benutzten artfremden Serums die durch die Reizung des zentralen Vagusstumpfes hervorgerufene Blut-

drucksenkung erheblich stärker ist als vor der Reinjektion. Noch 3 Stunden 40 Minuten nach der Serumreinjektion ist der Reizerfolg ein bedeutend größerer als vor der Reinjektion. Von der fünften Stunde nach der Reinjektion ab geht der Reizerfolg stark zurück. Die in den ersten Stunden nach der Serumreinjektion zu beobachtende erhöhte Blutdrucksenkung läßt auf eine gesteigerte Erregbarkeit des Vaguszentrums schließen, während der sich daran anschließende wieder abnehmende Reizerfolg auf eine verminderte Erregbarkeit des Vaguszentrums hindeutet. Sie hat wohl ihren Grund in dem gesteigerten Erregungszustand des Vaguszentrums. Denn auch für die nervösen Zentren gilt wohl die Tatsache, daß ihre

Tabelle 1.

Versuch vom 20. VI. 39. Katze 4000 g, 80 mg/kg Chloralose. 18. IV. 39 2,5 ccm Schweineserum i. m. Rechter Vagus durchschnitten, linker Vagus intakt.

Zeit	Senkung des arteriellen Drucks in % bei Reizung des zentralen rechten Vagusstumpfs mit			
	0,025 mA	0,05 mA	0,1 mA	0,2 mA
15^{00}	2,5	9,0	13,0	35,0
15^{50}	0,5 ccm Schweineserum pro kg i. v.			
16^{50}	12,5	28,0	46,5	40,5
19^{30}	11,5	33,0	48,5	39,5
21^{00}	7,5	10,5	16,0	21,5
22^{00}	7,0	13,0	21,0	20,0

Erregbarkeit für „Zusatzreize" abnimmt, wenn sie sich im Zustand gesteigerter Erregung befinden.

Wir konnten in den bisherigen Versuchen die Beobachtung machen, daß die durch die Antikörper-Antigenreaktion hervorgerufene Umstimmung in der Vaguserregbarkeit der Körperzellen und die damit einhergehende Zunahme des physiologischen Vagustonus sich im Anschluß an die Antigenreinjektion langsam im Verlauf von Stunden erst zur vollen Stärke entwickelt. Dafür spricht einmal die nach der Antigenreinjektion zu beobachtende stetige Zunahme des Vagustonus und andererseits auch die bei Reizung des peripheren Vagusstumpfes sich an die anfängliche Erregbarkeitssteigerung anschließende Abnahme der Erregbarkeit. Denn sie ist, wie wir bereits angeführt haben, darauf zurückzuführen, daß auf der Höhe der allergischen Umstimmung der gesteigerte Erregungszustand sich im Erfolgsorgan auf alle Zellen ausbreiten kann, weil in der äußersten Peripherie eine Trennung zwischen rechtem und linkem Vagus nicht mehr existiert, wie man aus den histologischen Untersuchungen von Stöhr[11] schließen darf. Es wird also stets dann in der Allergie, wenn noch einer der beiden Vagi mit dem Vaguszentrum in Verbindung steht, infolge der Zunahme des physiologischen Vagustonus nicht nur die Erregbar-

[11] Klin. Wschr. **2**, 41 (1939).

keit des intaktem Vagus bei elektrischer Reizung stark abnehmen, sondern nach einer gewissen Zeit auch bei Reizung des anderseitigen peripheren Vagusstumpfes die Erregbarkeit herabgesetzt sein.

Auf Grund der Tatsache, daß die Steigerung des Vagustonus im Anschluß an die Serumreinjektion langsam vor sich geht, kann man schließen, daß auch beim Allergiker zwischen dem Zeitpunkt des Zusammentreffens der Allergene mit den spezifischen zellständigen Antikörpern und dem Auftreten klinischer allergischer Krankheitssymptome eine größere Zeitspanne liegen kann. Denn zu Funktionsstörungen an peripheren Organen wird es nach stattgehabter Antikörper-Antigenreaktion erst dann kommen können, wenn der physiologische Vagustonus so hoch geworden ist, daß er durch den antagonistisch wirkenden Sympathicustonus nicht mehr kompensiert werden kann, oder aber es wird dann zu Funktionsstörungen kommen, wenn der Vagustonus eine Höhe erreicht hat, in der durch einen minimalen, normalerweise unwirksamen zusätzlichen Vagusreiz die Reizschwelle des Erfolgsorgans überschritten wird und es somit zur Änderung der Funktionslage des Organs kommt. So können bei einem Allergiker zu einer Zeit, zu der er längst nicht mehr in Berührung mit den spezifischen Allergenen kommen kann, dann als Folge der früher stattgehabten Antikörper-Antigenvereinigung die allergischen Krankheitssymptome in Erscheinung treten, wenn durch irgendeinen exogenen, z. B. mechanischen oder endogenen, z. B. psychischen, das vagische System treffenden Reiz der bereits gesteigerte, aber noch latent bleibende Vagustonus gerade noch so weit verstärkt wird, daß er für das Erfolgsorgan überschwellig wird.

Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß die vegetativ innervierten Organe unter einem Dauertonus stehen, d. h. daß vom Vaguszentrum Dauerimpulse in die Peripherie geschickt werden, die dort zu einer Dauerbildung des Überträgerstoffs Azetylcholin führen. Das Azetylcholin gehört seinem Wirkungscharakter nach zu den Potentialstoffen. Diese wirken nach W. Straub[12] nicht so sehr durch ihre am Wirkungsort vorhandene absolute Menge, sondern durch den Ausgleich eines bestimmtwertigen Konzentrationsgefälles in der Richtung zum Zellinnern hin. Die Wirkungsstärke des Azetylcholins hängt von der Höhe des an den Zellgrenzflächen bestehenden Konzentrationsgefälles ab. Führt man nun von außen z. B. durch Injektion in die Blutbahn der Zelle eines Erfolgsorgans Azetylcholin zu, so kann bei niedrigem physiologischen Azetylcholinkonzentrationsgefälle durch eine bestimmte, von außen zugeführte Menge Azetylcholin das bestehende physiologische Acetylcholinkonzentrationsgefälle bedeutend leichter eine wesentliche Erhöhung erfahren als bei Vorhandensein eines sehr hohen physiologischen Azetylcholinkonzentrationsgefälles. Die Wirkung einer von außen zugeführten bestimmten Menge Azetylcholins ist deshalb um so geringer, je höher das physiologische Azetylcholinkonzentrationsgefälle, d. h. je höher der physiologische Vagustonus ist.

[12] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **57**, 423 (1907).

In Abb. 3a wurde während eines Blutdruckversuchs an einem mit artfremdem Serum vorbehandelten Tiere im Abstand von etwa 15—20 Minuten 0,1, 0,2 und 0,5 γ Azetylcholin intravenös injiziert. Auf jede Injektion hin erfolgte eine Blutdrucksenkung, die bei 0,1 γ 15,5 mm Hg, bei 0,2 γ 19 mm Hg und bei 0,5 γ 24 mm Hg beträgt. Im Anschluß daran wurden kleine Mengen Adrenalin injiziert (Abb. 3b). Adrenalin kann nach den Untersuchungen von Cannon[13] u. a. als der Sympathicusüberträgerstoff angesehen werden, und ruft als Antagonist des Vagus durch Gefäßverengerung und Erhöhung des Schlagvolumens bekanntlich eine Blutdrucksteigerung hervor. Aus der Abb. 3b ist zu ersehen, daß der Blutdruck nach Injektion von 5 γ Adrenalin um 10 mm Hg, nach 10 γ Adrenalin um 30 mm Hg und nach 20 γ Adrenalin um 44 mm Hg

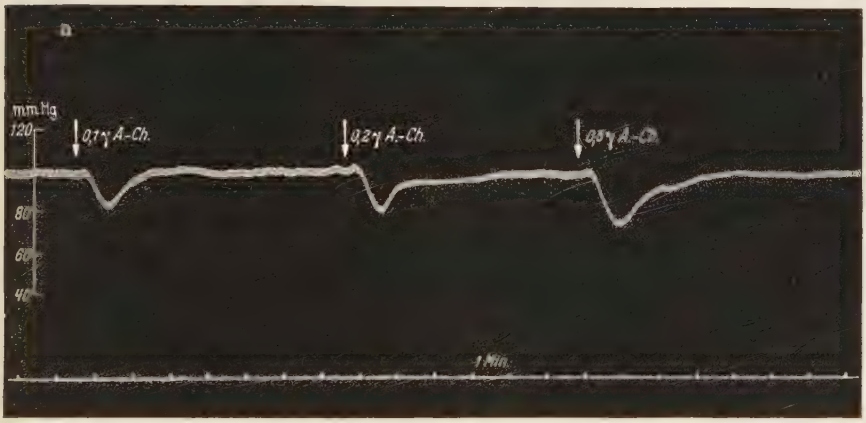


Abb. 3a.
17. IV. 1939, Katze 2500 g. 80 mg Chloralose pro kg. Am 28. III. 1939 2,5 ccm Hundeserum i. m.

ansteigt. Nun wurden dem Tier 0,2 ccm kg des zur Sensibilisierung benutzten artfremden Serums intravenös injiziert. Aus Abb. 3c, die die Verhältnisse 45 Minuten nach der Serumreinjektion wiedergibt, ersehen wir, daß die vor der Serumreinjektion injizierten Azetylcholinmengen von 0,1, 0,2 und 0,5 γ Azetylcholin den Blutdruck kaum mehr unter den Ausgangswert zu senken vermögen. Nach der Injektion von 0,2 γ und ganz besonders nach der von 0,5 γ Azetylcholin kommt es zu einer starken gegenregulatorischen Blutdrucksteigerung, so daß nach der Injektion von 0,5 γ der Blutdruck bis 26 mm Hg über den Ausgangswert ansteigt. Während 45 Minuten nach der Serumreinjektion die Ansprechbarkeit des arteriellen Systems gegenüber dem Vagusüberträgerstoff Azetylcholin stark herabgesetzt ist, ist zum gleichen Zeitpunkt, wie aus Abb. 3d hervorgeht, die Empfindlichkeit des Gefäßsystems gegenüber dem Sympathicusüberträgerstoff Adrenalin bedeutend erhöht. Nach Injektion

[13] Amer. J. Physiol. **58**, 353 (1921); Endocrinology **15**, 423 (1931).

von 5 γ Adrenalin kommt es zu einer Blutdrucksteigerung von 14 mm Hg, nach 10 γ um 43 mm Hg und nach 20 γ Adrenalin um 77 mm Hg. $2^1/_2$ Stunden nach der Serumreinjektion spricht, wie aus Abb. 3e hervorgeht, das arterielle System auf Azetylcholin überhaupt nicht mehr an, denn

Abb. 3b. Fortsetzung des Blutdruckversuches vom 17. IV. 1939.

Abb. 3c. Fortsetzung des Blutdruckversuches vom 17. IV. 1939.

selbst 2,0 γ Azetylcholin — das ist die 20fache Menge der zu Beginn des Versuchs noch blutdrucksenkenden Azetylcholindosis — haben keine Wirkung mehr. Doch auch die Ansprechbarkeit gegenüber Adrenalin ist jetzt herabgesetzt, denn während noch vor $1^1/_2$ Stunden 10 γ Adrenalin eine Blutdrucksteigerung um 43 mm Hg hervorriefen, erhöhen sie den Blutdruck

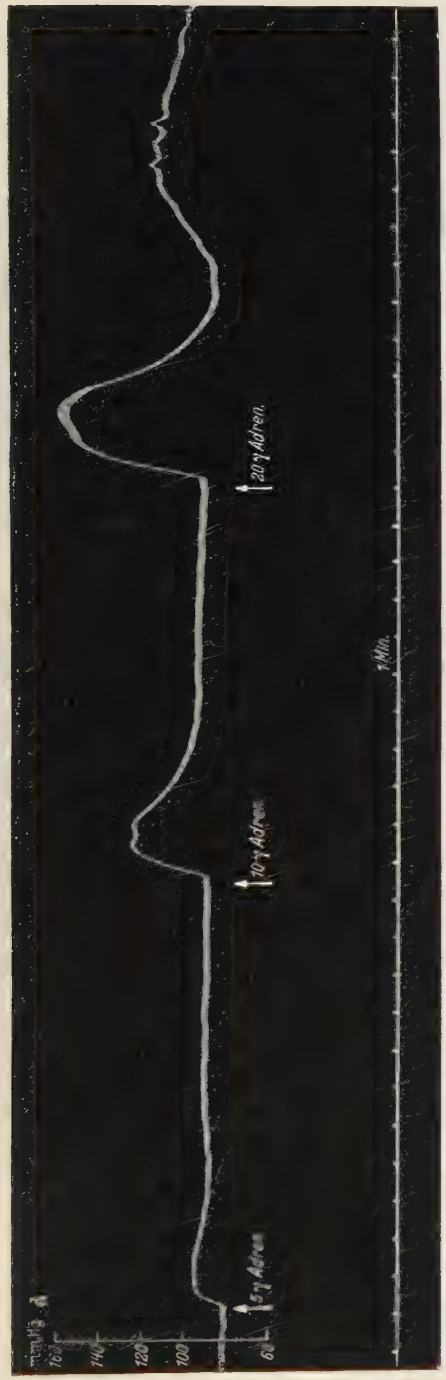


Abb. 3d. Fortsetzung des Blutdruckversuches vom 17. IV. 1939.

jetzt nur noch um 27 mm Hg, und 20 γ Adrenalin, die vor $1^1/_2$ Stunden den Blutdruck noch um 77 mm Hg erhöhten, steigern ihn jetzt nur um 35 mm Hg.

Unter Berücksichtigung der eben erhobenen Befunde soll kurz versucht werden, eine Vorstellung zu gewinnen vom Wesen der durch die Antikörper-Antigenreaktion hervorgerufenen Erregbarkeitssteigerung der Zellen vegetativ innervierter Organe gegenüber dem Vagus. Es ist bekannt, daß die bei Sensibilisierung mit artfremdem Eiweiß im tierischen Organismus gebildeten Antikörper Antikörper vom Charakter der Präzipitine sind. Sie zirkulieren zum größeren Teil im Blut zum restlichen Teil aber sind sie zellständig und möglicherweise an den Zellgrenzflächen aller Körperzellen seßhaft. Bei intravenöser Zufuhr des spezifischen Antigens kann es nach der Auffassung von Doerr[14] (Theorie der physikalischen und reversiblen Membranstörung nach Doerr) bei der mit den zellständigen Antikörpern sich abspielenden Antikörper-Antigenreaktionen durch Entladungsvorgänge zu reversiblen physikalisch-chemischen Zustandsänderungen der in den Zellgrenzflächen fixierten Eiweißkörper kommen im Sinne einer Präzipitation. Wenn wir auch annehmen müssen, daß die bei der Vereinigung des

[14] v. Bergmann-Staehelin, Handb. inner. Med. IV, 1 (1926) und Handb. norm. u. path. Physiol. Bd. XIII (1929).

Antigens mit den in den Zellmembranen haftenden Antikörpern auftretenden Entladungsvorgänge nicht bis zu einer Flockung der Zellgrenzflächenkolloide führen, so ist es andererseits sehr wahrscheinlich, daß geringgradigere kolloide Zustandsänderungen, die als Vorstufen der Präzipitation bekannt sind, dabei auftreten werden. Es ist dabei vor allem zu denken an Entquellungsvorgänge und eine damit einhergehende Ver-

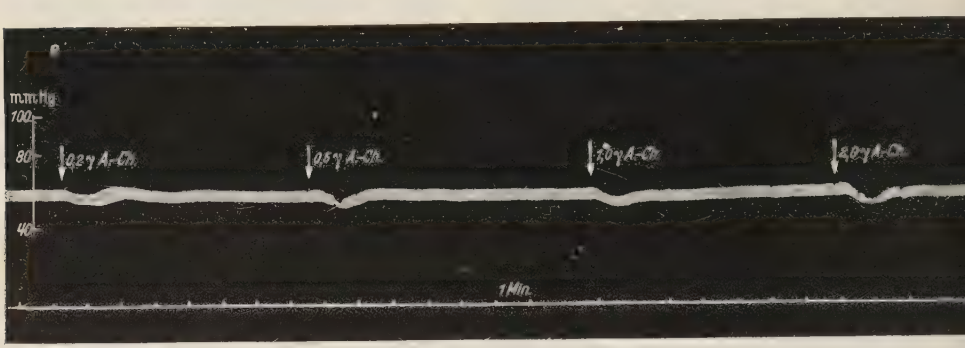


Abb. 3e. Fortsetzung des Blutdruckversuches vom 17. IV. 1939.

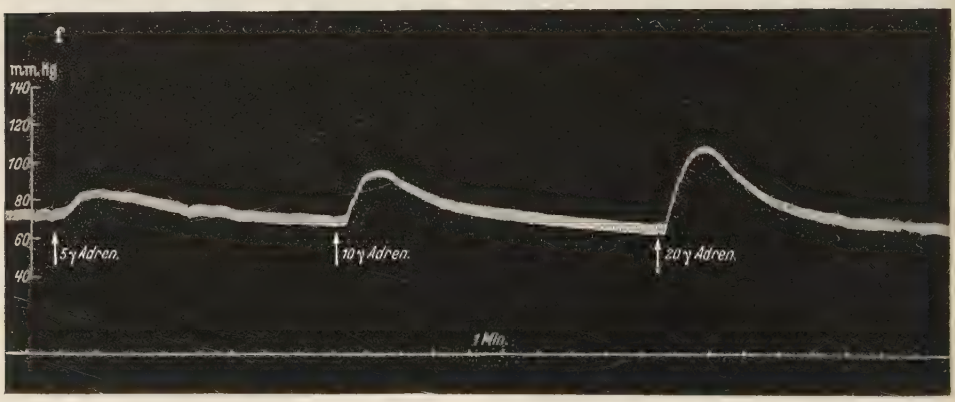


Abb. 3f. Fortsetzung des Blutdruckversuches vom 17. IV. 1939.

minderung des Dispersitätsgrades der Zellgrenzflächenkolloide. Durch frühere Untersuchungen von uns[15] wurde der Nachweis erbracht, daß Einflüsse, die eine Entquellung und Dispersitätsgradverminderung der Zellgrenzflächenkolloide hervorrufen, dadurch die Permeabilität der Zellgrenzflächen herabsetzen. Wie bereits erwähnt, wird die Vaguswirkung durch einen chemischen Überträgerstoff, das Azetylcholin, auf die Zellen des Erfolgsorgans übertragen, indem an den bis in die unmittelbare Umgebung der Organzellen reichenden Nervenendigungen dauernd Azetyl-

[15] Biochem. Z. **291**, 88 (1937); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 212 (1938); **191**, 226 (1938); **191**, 581 (1939); **192**, 1 (1939); **192**, 276 (1939).

cholin gebildet wird, das durch die Zellgrenzflächen hindurch in das Innere der Zellen eindringt und dort durch ein Ferment, die sogenannte Cholinesterase, der dauernden Zerstörung unterliegt. Durch diesen Vorgang der Dauerbildung von Azetylcholin einerseits und der Dauerzerstörung im Zellinnern andererseits entsteht zwangsläufig ein Konzentrationsgefälle für den Überträgerstoff Azetylcholin zum Zellinnern hin, dessen Höhe bestimmend ist für den Grad der Wirkung des Azetylcholins. Wird die normale Permeabilität der Zellgrenzflächen infolge Entquellung und Dispersitätsgradverminderung der Zellgrenzflächenkolloide herabgesetzt, so kommt es bei gleichbleibender Dauerbildung von Azetylcholin an den Nervenendigungen zu einer Stauung vor den Zellgrenzflächen und somit zu einer Erhöhung des Azetylcholinkonzentrationsgefälles zwischen dem Bildungsort und dem Zellinnern. Da aber die Höhe des Konzentrationsgefälles die Wirkungsstärke bestimmt, so führt eine Permeabilitätsverminderung der Zellgrenzflächen stets zu einer Wirkungssteigerung des Azetylcholins und somit auch des Vagus auf die Zelle des Erfolgsorgans. Also auch bei gleichbleibender Azetylcholinbildung, d. h. bei unverändertem Tätigkeitszustand des Vaguszentrums, nimmt die Erregbarkeit der Organzellen gegenüber dem vagischen System zu, wenn sich an ihren Grenzflächen Vorgänge abspielen, die deren Durchlässigkeit herabsetzen.

Wir konnten aus dem in Abb. 3 wiedergegebenen Versuch ersehen, daß die intravenöse Zufuhr von 0,1 γ Azetylcholin vor der Serumreinjektion das bestehende physiologische Azetylcholinkonzentrationsgefälle so weit erhöhen konnte, daß es zu einer vorübergehenden Vaguswirkung, in diesem Falle zu einer vorübergehenden Blutdrucksenkung von 14 mm Hg kam. $2^1{}_2$ Stunden nach der Serumreinjektion hatten selbst 2,0 γ Azetylcholin praktisch keine Wirkung mehr. Es muß sich im Anschluß an die Serumreinjektion an den wenig durchlässig gewordenen Zellgrenzflächen das physiologische Azetylcholinkonzentrationsgefälle so sehr erhöht haben, daß es selbst durch die Zufuhr von zusätzlichen 2 γ Azetylcholin praktisch nicht mehr gesteigert werden konnte.

Der in Abb. 3 wiedergegebene Versuch gibt uns gleichzeitig Einblick in die Änderungen der Erregbarkeit der Erfolgsorganzellen gegenüber dem Sympathicusüberträgerstoff Adrenalin im Zustand der Allergie. Wie wir aus der Abb. 3d entnehmen können, ist das arterielle System 1 Stunde nach der Serumreinjektion wesentlich empfindlicher als vorher. So betrug die durch 20 γ Adrenalin hervorgerufene Blutdrucksteigerung 1 Stunde nach der Serumreinjektion 77 mm Hg gegenüber 43 mm Hg vorher. Sie hat also um 80 % zugenommen. Diese Empfindlichkeitszunahme gegenüber Adrenalin spricht für eine Abnahme des physiologischen Sympathicustonus, die wiederum auf die Zunahme des physiologischen Vagustonus zurückzuführen ist. Die Tatsache, daß bei mäßig erhöhtem Vagustonus und entsprechend herabgesetztem Sympathicustonus die Ansprechbarkeit des arteriellen Systems gegenüber Adrenalin stets gesteigert ist, kann auf Grund zahlreicher

experimenteller Untersuchungen von Gremels[8] und seinen Mitarbeitern Zinnitz und Heim als bewiesen gelten, ebenso die Tatsache, daß bei stark erhöhtem Vagustonus die Adrenalinwirkung abnimmt, weil jetzt der größere Teil des zugeführten Adrenalins dazu beansprucht wird, den hohen Vagustonus herabzusetzen, und somit nur der kleinere Teil des zugeführten Adrenalins für die eigentliche sympathicotrope Wirkung zur Verfügung bleibt. Die Steigerung des physiologischen Vagustonus nach der Serumreinjektion kommt auch darin deutlich zum Ausdruck, daß eine Stunde nach der Serum reinjektion 0,5 γ Azetylcholin, die vorher zu einer starken Blutdrucksenkung geführt haben, jetzt (Abb. 3c) eine blutdrucksenkende Wirkung nahezu vollkommen vermissen lassen, aber andererseits den Antagonisten zur gegenregulatorischen Blutdrucksteigerung anregen. Wie aus der Abb. 3c hervorgeht, steigt der Blutdruck nach der Injektion von 0,5 γ Azetylcholin bis auf 30 mm Hg an. Diese gegenregulatorische Blutdrucksteigerung kommt bei hohem Vagustonus und niedriegem Sympaticustonus dadurch zustande, daß infolge des hohen physiologischen Azetylcholinkonzentrationsgefälles das zusätzlich zugeführte Azetylcholin eine wirkungsvolle Steigerung des Azetylcholinkonzentrationsgefälles nicht hervorzurufen vermag. Andererseits regt die zusätzlich zugeführte Überträgersubstanz im Organismus die gegenregulatorische Adrenalinbildung an. Infolge des niedrigen Sympathicustonus ist das sympathische System Adrenalin gegenüber besonders empfindlich und wird deshalb in besonders starkem Maße erregt.

Es konnte bisher an zwei in ihren Funktionen vom vegetativen Nervensystem gesteuerten Organsystemen gezeigt werden, daß sie durch Herbeiführung der allergischen Reaktion eine Änderung ihrer Erregbarkeit gegenüber dem vagischen System erfahren haben. Es waren das reizbildende System im rechten Vorhof des Herzens und der glattmuskuläre Apparat des Gefäßsystems. Nunmehr soll die glatte Muskulatur der Atemwege untersucht werden, deren Kontraktionszustand bekanntlich durch das vegetative Nervensystem in der Weise gesteuert wird, daß der Sympathicus die glatten Muskelfasern der Bronchien erschlafft, während der Vagus den Kontraktionszustand der Bronchialmuskulatur erhöht und dadurch das Lumen der Atemwege herabsetzt. Änderungen der Erregbarkeit der Bronchialmuskulatur gegenüber dem Vagus im Zustand der Allergie zu untersuchen ist deshalb von besonderem Interesse, weil eine der klinisch bedeutsamsten allergiebedingten Krankheiten, nämlich das Bronchialasthma, durch diese Untersuchungen hinsichtlich seiner Genese eine weitere Klärung erfahren kann.

Die Methode, die zur Messung des Kontraktionszustandes der Bronchialmuskulatur benutzt wurde, ist bereits oben mitgeteilt. Einige Stunden vor der Serumreinjektion wurde an dem gegenüber artfremdes Serum überempfindlich gemachten Versuchstier die Empfindlichkeit der Bronchialmuskulatur gegenüber steigenden Vagusreizen geprüft, indem jeweils 30 Minuten lang einer oder auch beide Vagi elektrisch gereizt wurden.

In dem in Abb. 4 in Teilausschnitten wiedergegebenen Versuch wurden Reizintensitäten bis zu 2,6 mA angewandt, ohne daß ein Einfluß auf die

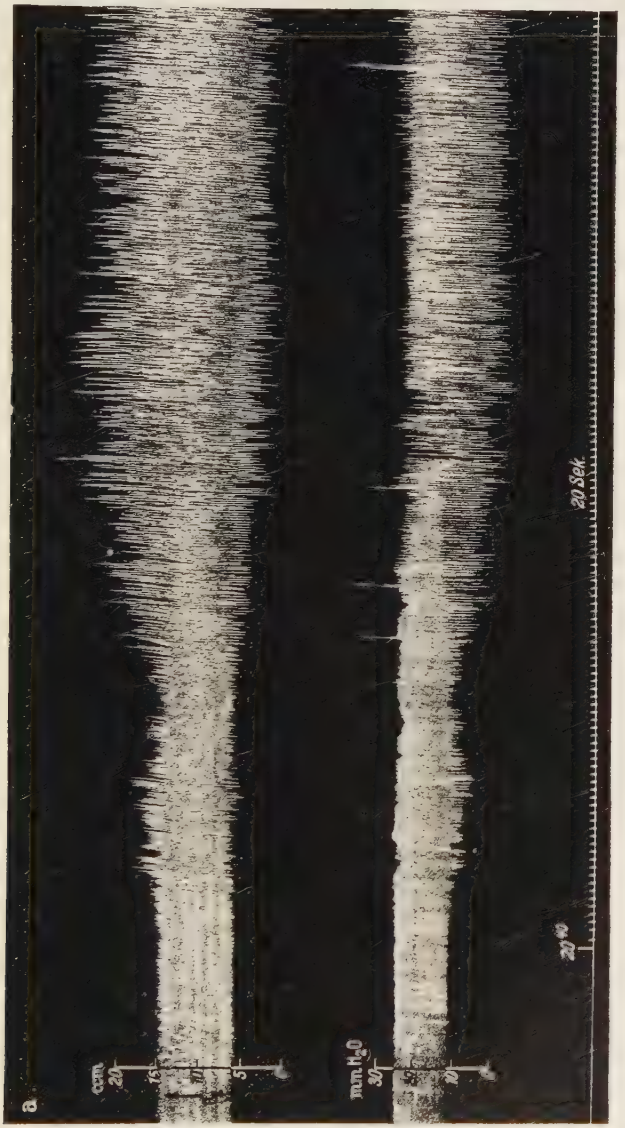


Abb. 4a. 7. III. 1939. Katze 2300 g. Am 20. II. 1939 2,5 ccm Hundeserum i. m. 80 mg Chloralose pro kg. Versuchsdauer 12 Std. Pumpenhub = 50 ccm O_2. Obere Kurve = Differenz zwischen Pumpenhub und Atemvolumen in ccm O_2. Untere Kurve = Druck im linken Pleuraraum in mm H_2O.

Brochialmuskulatur nachzuweisen war. Nachdem so gezeigt worden war, daß am sensibilisierten Tier vor der Serumreinjektion selbst Reizintensitäten von 2,6 mA an der Bronchialmuskulatur unterschwellig blieben, wurden 0,3 ccm/kg des zur Sensibilisierung benutzten Serums intravenös injiziert.

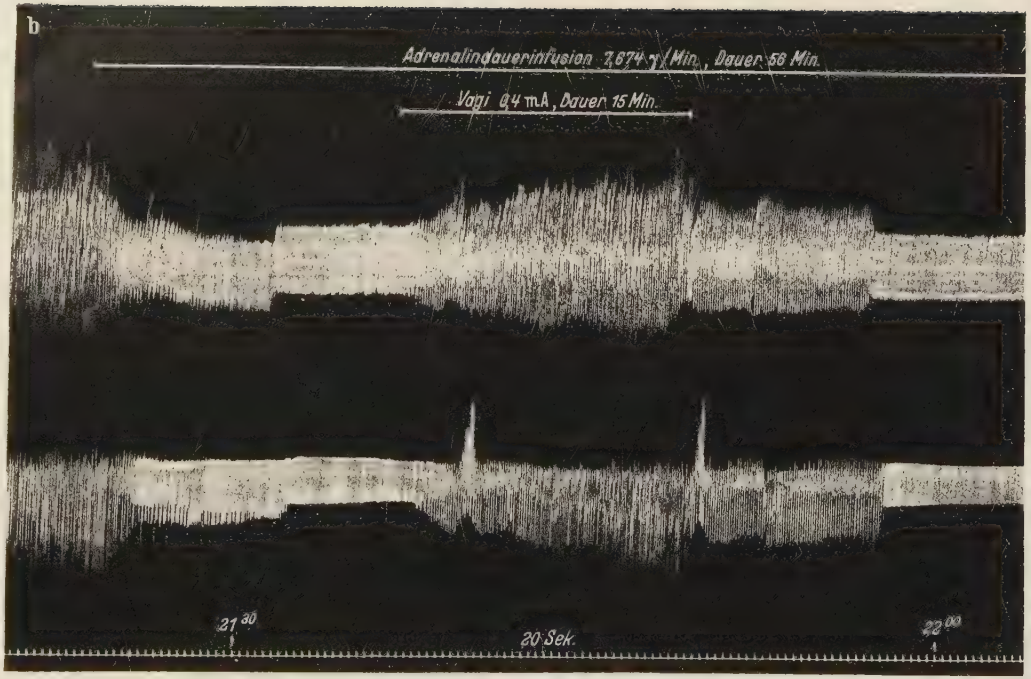


Abb. 4b. Direkte Fortsetzung des Versuches vom 7. III. 1939.

Abb. 4c. Fortsetzung des Versuches vom 7. III. 1939; nach 10 Minuten.

Die Serumreinjektion geschah um 20^{10}. Wie aus der Abb. 4a zu ersehen ist, beginnt um 20^{40}, also 30 Minuten nach der Serumreinjektion, sich spontan ein erhöhter Kontraktionszustand der Bronchialmuskulatur auszubilden, der um 21^{00} voll entwickelt ist. Bei normaler Bronchialweite betrug das Fassungsvermögen der Atemwege 41,5 ccm O_2. Auf der Höhe des Bronchospasmus beträgt das Fassungsvermögen nur noch 30,5 ccm O_2, es ist also um 26,5 % zurückgegangen. Daß der Trachealinnendruck mit Einsetzen des Bronchospasmus wesentlich zugenommen hat, läßt sich in Abb. 4a ebenfalls an Hand der oberen Manometerkurve ablesen. Der Druck im rechten Pleuraraum nimmt mit Einsetzen des Bronchospasmus ebenfalls zu, wie die untere Kurve in Abb. 4a beweist. Um 21^{24} wurde, wie Abb. 4b zeigt, mit einer intravenösen Dauerinfusion von 7,674 γ Adrenalin pro Minute begonnen. Mit Hilfe einer intravenösen Dauerinfusion eines Überträgerstoffs kann man sozusagen die physiologische, an den Nervenendigungen vor sich gehende Dauerbildung von Überträgersubstanz künstlich nachahmen und beliebig erhöhen. Wie aus der Abb. 4b hervorgeht, hört schon wenige Minuten nach Beginn der Adrenalindauerinfusion der Bronchospasmus auf, und die O_2-Kapazität der Atemwege erreicht wieder die normalen Ausgangswerte. Nun wurden, während die Adrenalindauerinfusion weitergeht, 15 Minuten lang beide Vagi mit 0,4 mA gereizt. Es kommt während der Vagusreizung erneut zu einem Bronchospasmus und zu einer Verminderung des O_2-Fassungsvermögens der Atemwege. 8 Minuten nach Beendigung der Vagusreizung klingt der Bronchospasmus unter der Wirkung der fortgesetzten Adrenalindauerinfusion innerhalb 8 Minuten wieder vollkommen ab. Aus dem weiteren Verlauf des Versuchs (Abb. 4c) ersieht man, daß nach Absetzen der Adrenalindauerinfusion, d. h. nach Beendigung des künstlich erhöhten Sympathicustonus, der Bronchospasmus sofort wieder spontan einsetzt. Durch eine intravenöse Einzelinjektion von 25 γ Adrenalin kann er nochmals für wenige Minuten unterbrochen werden, wie aus Abb. 4c zu ersehen ist.

Wir können an Hand dieses Versuches folgende Feststellung machen. Am sensibilisierten Tier sind vor der zweiten Allergenzufuhr elektrische Zusatzreize bis zu 2,6 mA nicht ausreichend, um die Bronchialmuskulatur in den Zustand gesteigerter Funktion zu versetzen. Nach Auslösung der Antikörper-Antigenreaktion aber nimmt der Vagustonus so stark zu, daß bereits 30 Minuten später die Reizschwelle der Brochialmuskulatur gegenüber Vagusreizen überschritten ist, und damit eine Zunahme des Kontraktionszustandes der Bronchialmuskulatur einsetzt. Unter dem Einfluß der Adrenalindauerinfusion wird der erhöhte physiologische Vagustonus so weit zurückgedrängt, daß die Vagusreize für die Bronchialmuskelzelle wieder unterschwellig werden, was darin zum Ausdruck kommt, daß das O_2-Fassungsvermögen der Atemwege, der Trachea-Innendruck und der Druck im Pleuraraum wieder zur Norm zurückkehren. Doch während vor der Serumreinjektion selbst Reizstärken von 2,6 mA nicht ausreichten,

um die Bronchialmuskelzelle in den Zustand gesteigerter Funktion zu versetzen, genügt jetzt, da der abnorm hohe Vagustonus durch die Adrenalinzufuhr herabgesetzt ist, ein minimaler zusätzlicher Vagusreiz von nur 0,4 mA, um die Bronchialmuskulatur in den Zustand verstärkter Kontraktion zu versetzen.

Der folgende zu beschreibende Versuch unterscheidet sich von dem soeben mitgeteilten dadurch, daß bei dem 23 Tage vor Durchführung des Versuchs mit artfremdem Serum vorbehandelten Tier sich schon vor der Serumreinjektion während einer Vagusreizung ein hochgradiger Bronchospasmus entwickelte. Es erhebt sich dabei die Frage, ob diese Erregbarkeitssteigerung der Bronchialmuskulatur als die Folge stattgehabter Antikörper-Antigenreaktionen angesehen werden darf, da sie schon nach einer einmaligen ersten Injektion artfremden Serums aufgetreten ist. Doch kennen wir beim Mensch ein Krankheitsbild, das sehr häufig etwa 10 Tage nach einer einmaligen parenteralen Zufuhr einer größeren Menge artfremden Serums in Erscheinung tritt und trotzdem als allergisches Krankheitsbild angesprochen wird. Es ist das die sogenannte Serumkrankheit. Man nimmt an, daß nach einer einmaligen Zufuhr größerer Mengen artfremden Serums im Organismus noch Antigenreste vorhanden sind zu einem Zeitpunkt, in dem die Antikörperbildung bereits soweit fortgeschritten ist, daß es zu spezifischen Antigen-Antikörperreaktionen kommen kann. Unter Zugrundelegung dieser Gedankengänge dürfen wir vielleicht auch die vor der intravenösen Antigenreinjektion beobachteten Funktionsstörungen an der Bronchialmuskulatur als durch vorausgegangene allergische Reaktion bedingt ansehen. In diesem Versuch wurde der linke periphere Vagusstumpf 15 Minuten lang mit 1,6 mA gereizt. Wir ersehen aus der oberen Manometerkurve der Abb. 5a, daß gegen Ende der Vagusreizperiode der Druck in der Trachea stark zunimmt und das O_2-Fassungsvermögen der Atemwege zunehmend geringer wird. Interessant ist, daß der Bronchospasmus erst gegen Ende der Vagusreizung sich entwickelt und diese ganz erheblich überdauert. Aus Abb. 5b ist zu ersehen, daß noch 30 Minuten nach Absetzen der Vagusreizung der gesteigerte Kontraktionszustand der Bronchialmuskulatur in unveränderter Stärke besteht. Wir ersehen daraus, daß während einer zusätzlichen Reizung des N. Vagus eine Änderung im Funktionszustand des Erfolgsorgans noch nicht in Erscheinung zu treten braucht, aber noch lange nach Aufhören des Vagusreizes die Zelle des Erfolgsorgans sich im Zustand gesteigerter Erregung und gesteigerter Funktion befinden kann. Nachdem der Bronchospasmus über eine halbe Stunde bestanden hat, wird mit einer intravenösen Adrenalindauerinsufion von 11,5 γ/Minute begonnen, die mit 38,2 γ/Minute fortgesetzt wird. Unter der Adrenalindauerinfusion wird der gesteigerte physiologische Vagustonus auf die Bronchialmuskulatur so stark herabgesetzt, daß diese wieder ihre normale Kontraktionslage annimmt. Mehrere Stunden nach Auftreten dieses durch eine voraus-

gehende Vagusreizung hervorgerufenen Bronchospasmus wurden im Abstand von 15 Minuten viermal 0,2 ccm des zur Sensibilisierung verwandten artfremden Serums dem Versuchstier intravenös injiziert, und damit jetzt

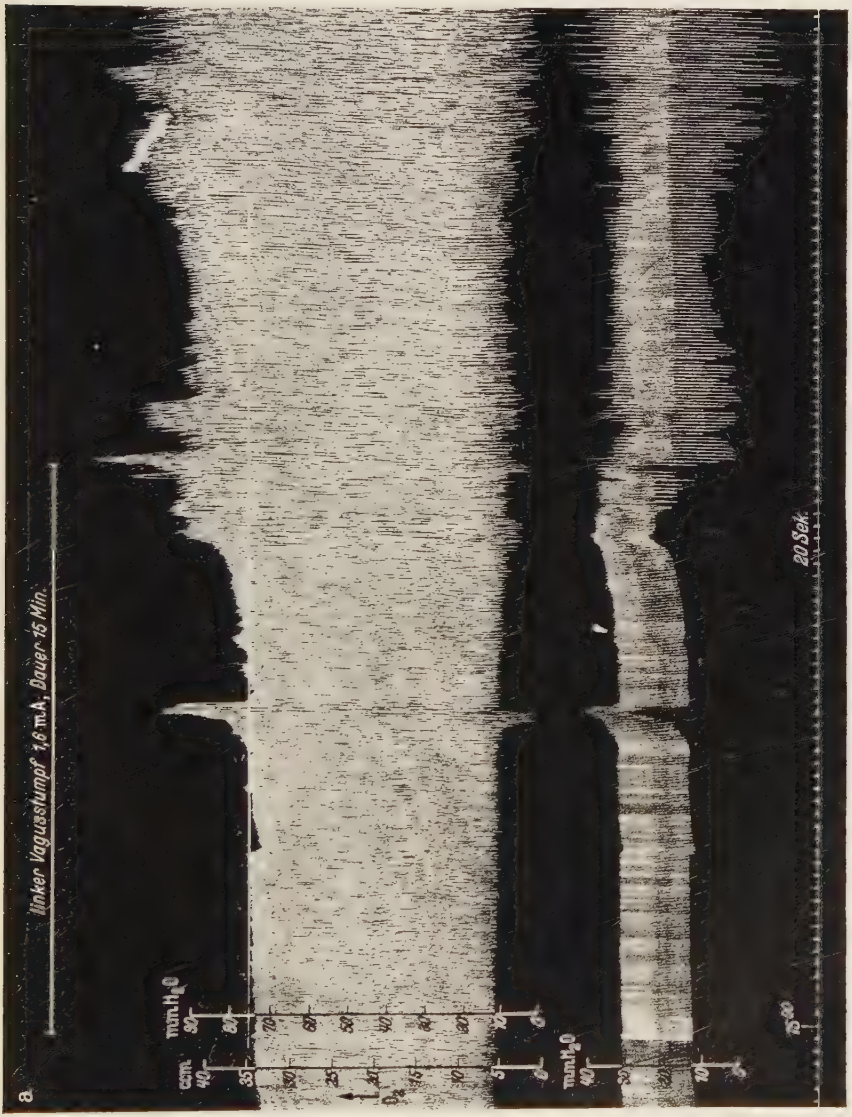


Abb. 5a. 15. III. 1939. Katze 2700 g. 80 mg Chloralose. Am 25. II. 1939 5 ccm Hundeserum i. m. Linker Vagus durchschnitten. Versuchsdauer 12 Std. Pumpenhub 65 ccm O_2. Obere Kurve = Differenz zwischen Pumpenhub und Atemvolumen in ccm O_2. Untere Kurve = Druck im linken Pleuraraum in mm H_2O.

die Antigenreinjektion vorgenommen. Daraufhin kam es, genau wie in dem in Abb. 4 beschriebenen Versuch, zu mehrmalig spontan sich entwickelnden Perioden eines erhöhten Bronchialmuskeltonus. Als ein Beispiel dieses anfallsweise auftretenden allergiebedingten Bronchospasmus

diene der in Abb. 5c wiedergegebene Versuchsabschnitt. Aus der oberen Manometerkurve ist zu errechnen, daß während des Bronchospasmus das O_2-Fassungsvermögen der Atemwege von 37 ccm O_2 auf 10,5 ccm O_2

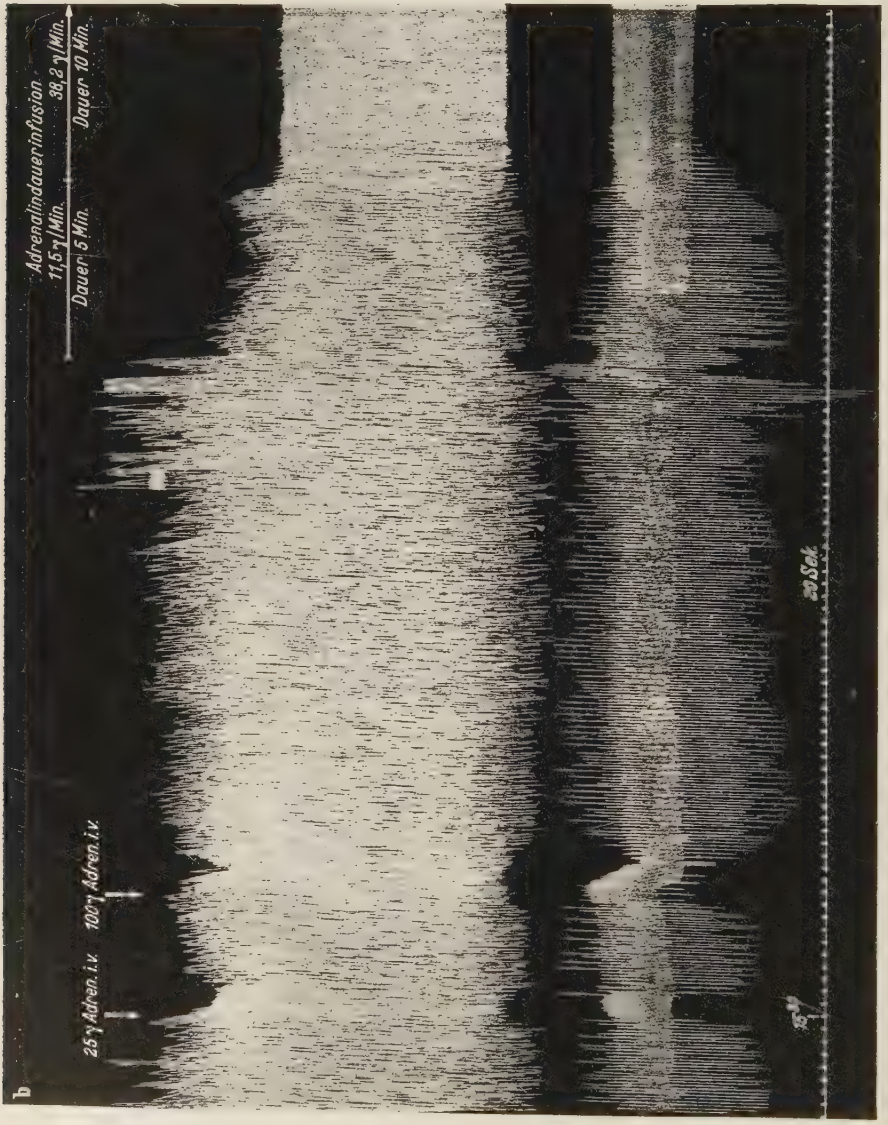


Abb. 5b. Fortsetzung des Versuches vom 15. III 1939.

zurückging. Es hat also um 72 % abgenommen. Während des Anfalls ist am Versuchstier eine stark forcierte Atmung zu beobachten. Das Zwerchfell wird trotz ausreichender künstlicher Beatmung rhythmisch aktiv nach unten gezogen, und der Thorax aktiv stark gehoben. Es war weiterhin

interessant festzustellen, daß nach dem Anfall in der Trachea sehr viel zäher Schleim zum Vorschein kam, der aus der Trachealkanüle entfernt werden mußte, weil sonst das Lumen der Kanüle durch das zähe Sekret vollständig verstopft worden wäre. In dem Schleim waren massenhaft Epithelien und Leukocyten zu finden, darunter sehr zahlreiche eosinophile. Eosinophile Leukocyten wurden von uns im Bronchialsekret stets erst einige Stunden nach der Antigenreinjektion gefunden. Sehr aufschlußreich ist das Verhalten des Pleuradrucks während des Bronchospasmus, der in Abb. 5c durch die untere Manometerkurve wiedergegeben ist. Der Druck in der Pleura steigt mit Einsetzen des Bronchialkrampfes sofort auf den höchsten inspiratorischen Wert an. Die durch die normale Inspiration und Exspiration im Pleuraraum entstehenden Druckschwankungen von rund 19 mm H_2O hören gleichzeitig damit auf, wie aus Abb. 5c zu ersehen ist. Daraus muß man schließen, daß mit Einsetzen des Bronchialkrampfes die Lunge sich stark aufbläht und in extremer Inspirationsstellung stehenbleibt. Denn wie aus der Abb. 5c zu ersehen ist, betragen die Pleuradruckschwankungen während des Bronchialkrampfs kaum mehr als 0,5 bis höchstens 1,0 mm H_2O, während sie, wie gesagt, normalerweise 19 mm H_2O betragen. Löst man den Bronchialkrampf – wie es in Abb. 5 geschehen ist — z. B. durch intravenöse Injektion von 1,0 g Urethan, so nehmen mit Wiedereinsetzen der normalen Inspirations- und Exspirationsbewegungen der Lungen die synchronen inspiratorischen und exspiratorischen Druckschwankungen im Pleuraraum auch wieder normale Werte

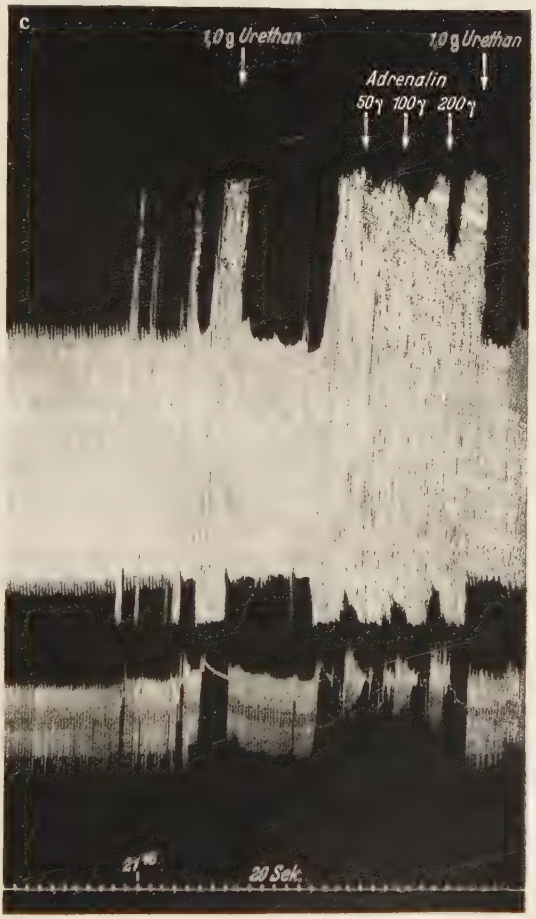


Abb. 5c. Fortsetzung des Versuches vom 15. III. 1939.

an. Gibt man dagegen, wie es in Abb. 5c ebenfalls geschehen ist, Adrenalin in kleinen Einzeldosen, die den Bronchialmuskelkrampf zwar nicht vollkommen zu lösen vermögen, ihn aber für etwa 20– 40 Sekunden etwas herabsetzen, so beobachtet man an den Ausschlägen des den Pleuradruck registrierenden Wassermanometers, wie die in extremer Inspirationsstellung während des Bronchialkrampfs stillstehende Lunge unter der Einwirkung dieses Mittels beginnt kleine Atemexkursionen auszuführen. Doch infolge der großen Flüchtigkeit der Adrenalinwirkung verflachen diese Atemexkursionen bald wieder, und die Lunge bleibt erneut infolge des wieder einsetzenden Bronchospasmus in extremer Inspirationsstellung stehen.

Wie aus der Abb. 5c hervorging, haben peripher angreifende Pharmaka, wie das Adrenalin, selbst in großen Dosen eine sehr geringe und flüchtige Wirkung. Dagegen kann durch große Dosen eines Narkoticums, wie z. B. des Urethans, der Bronchospasmus vorübergehend aufgehoben werden. Aus der Abb. 5c ist zu ersehen, daß die intravenöse Injektion von 4 ccm 25%iger Urethanlösung den Bronchospasmus für 3 Minuten zu beseitigen vermochte. Nach den Untersuchungen von H. Gremels[5] setzen Narkotica den Vagustonus deshalb herab, weil sie die Reizbildung im Vaguszentrum hemmen bzw. ganz lähmen. Auch in unserem Versuch muß die vorübergehende Aufhebung des Bronchospasmus durch das Urethan auf eine Hemmung des gesteigerten Tätigkeitszustandes des Vaguszentrums zurückgeführt werden. Bei abnorm hohem Vagustonus scheinen peripher, d. h. an der Erfolgsorganzelle unmittelbar angreifende Pharmaka weniger wirksam zu sein als Stoffe aus der Reihe der Narkotica, die zentral angreifen, d. h. die das reizbildende Vaguszentrum hemmend beeinflussen.

Wir konnten bei den Versuchen am Herzen und am arteriellen System die Feststellung machen, daß durch die Herbeiführung des allergischen Zustandes selbst keine oder nur geringe Änderungen im Funktionszustand dieser Organe, die als Folge eines gesteigerten Vagustonus hätten angesehen werden müssen, aufgetreten sind. Die durch den allergischen Zustand hervorgerufenen Erregbarkeitsänderungen blieben also latent und traten erst dann in Erscheinung, wenn der Vagus zusätzlich elektrisch gereizt wurde oder der Vagusüberträgerstoff Azetylcholin zusätzlich zugeführt wurde. Bei den Versuchen an der Bronchialmuskulatur sahen wir nun einige Stunden nach der Antigenreinjektion das spontane Auftreten einer Funktionsänderung, in diesem Versuche das Auftreten eines Bronchospasmus. Doch ist anzunehmen, daß auch in diesen Versuchen die physiologischen Erregungsimpulse des Vaguszentrums für die übererregbare Bronchialmuskelzelle unterschwellig geblieben wären, und somit das spontane Auftreten des Bronchialmuskelkrampfs ausgeblieben wäre ohne einen zusätzlichen, den Vagustonus steigernden Reiz. Dieser Reiz besteht nach unserer Meinung darin, daß die Versuchstiere mittels einer Starlingpumpe künstlich beatmet wurden. Bei dieser künstlichen Atmung wird unter Druck Luft in die Lungen gepreßt, so daß sich die Lungen passiv

entfalten. Durch diese Form der künstlichen Druckatmung wird natürlich auf die Lungenoberflächen ein gewisser mechanischer Reiz ausgeübt. Da die das zarte Alveolarendothel versorgenden sensiblen Nerven im N. Vagus verlaufende Fasern sind, so besteht durchaus die Möglichkeit, daß auf diesem Wege dem Vaguszentrum dauernd zusätzliche sensible Reize zugeführt werden, die das Vaguszentrum zusätzlich reizen, und es somit in den Zustand erhöhter Tätigkeit versetzen. Diese das Vaguszentrum treffenden zusätzlichen Reize könnten genügen, um die für die Erfolgsorgane noch unterschwelligen Erregungsimpulse so zu verstärken, daß sie für diese überschwellig werden. So kann man sich denken, daß auch beim menschlichen Allergiker sensible, das Vaguszentrum treffende Reize den Tätigkeitszustand des Vaguszentrums verstärken. Neben mechanischen, im Vagus verlaufende sensible Fasern erregenden Reizen können dafür auch andere, vor allem psychogene Reize in Frage kommen. So kann man sich vorstellen, daß es bei einem Allergiker erst dann zu einer Funktionssteigerung, z. B. der Bronchialmuskulatur und Bronchialschleimheit kommt, wenn irgendwelche mechanische, chemische oder psychogene das Vaguszentrum zusätzlich erregende Reize den Tätigkeitszustand des Vaguszentrums so weit steigern, daß die nunmehr zum Erfolgsorgan geleiteten Erregungsimpulse für dieses überschwellig werden und somit zur Funktionsänderung führen.

Durch die Untersuchungen von H. Gremels[6] konnte in den letzten Jahren gezeigt werden, daß dem vegetativen Nervensystem und seinen Überträgerstoffen neben seinen motorischen und sekretorischen Funktionen eine bedeutsame Aufgabe in der Steuerung des Zellstoffwechsels zukommt. Die von H. Gremels und H. Gremels und F. Zinnitz am isolierten Herz-Lungen-Präparat und an Spinaltieren durchgeführten Untersuchungen haben ergeben, daß der Sympathicus bzw. sein Überträgerstoff Adrenalin einen dissimilatorischen Einfluß auf den Zellstoffwechsel ausüben, während der Vagus bzw. sein Überträgerstoff, das Azetylcholin im assimilatorischen Sinne wirksam werden, so daß unter dem erhöhten Einfluß des Vagus bzw. seines Überträgerstoffs der relative Sauerstoffverbrauch sinkt, und die Glykogenbildung in der Zelle gegenüber der Glykogenaufspaltung relativ überwiegt. Diese von H. Gremels entdeckten stoffwechselsteuernden Funktionen des vegetativen Nervensystems bzw. seiner Überträgerstoffe haben durch unsere Untersuchungen eine weitere Bestätigung erfahren. Da verschiedenen allergischen Krankheiten eine Störung im Stoffwechsel der betroffenen Organzellen zugrunde zu liegen scheint, haben wir an allergisch gemachten Tieren untersucht, ob auch die stoffwechselsteuernde Funktion des vegetativen Nervensystems in der Allergie quantitativ verändert ist. Da die Stoffwechselversuche an Spinaltieren gemacht wurden, bei denen das Zentralnervensystem einschließlich Medulla oblongata zerstört ist, so fällt bei diesen Tieren jeder zentral-nervöse Einfluß weg. Die Tiere besitzen auch kein Vagus-

zentrum mehr. Wird der Vagus elektrisch gereizt, so hängt der Reizerfolg — ebenso wie bei Reizung des peripheren Vagusstumpfs nach Durchtrennung des Nerven — einzig ab von der jeweiligen Erregbarkeit der Erfolgsorganzelle gegenüber Vagusreizen.

Abb. 6 bringt die Ergebnisse eines an einem mit artfremdem Serum vorbehandelten Tier durchgeführten Stoffwechselversuchs. Die Methodik ist bereits mitgeteilt. Die untere ausgezogene Kurve zeigt die prozentualen Veränderungen des Sauerstoffverbrauchs im Verlauf des Versuchs. Es wurde für jede Versuchsperiode der mittlere Sauerstoffverbrauch pro Minute berechnet und dieser Wert in der Abbildung kurvenmäßig dargestellt.

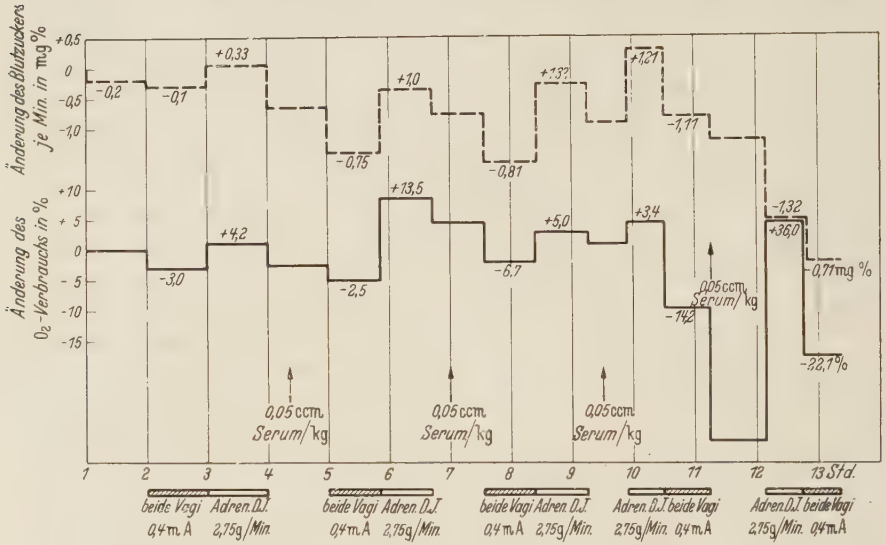


Abb. 6. 11. VII. 1939, Spinalkatze 3500 g. 90 mg Chloralose pro kg. Am 15. V. 1939 2,5 ccm Schweineserum i. m.

Die obere gestrichelte Kurve gibt die Änderungen des Blutzuckerspiegels im Verlauf des Versuchs wieder. Auch hier wurde für jeweils eine Versuchsperiode die Änderung des Blutzuckerspiegels in mg% pro Minute errechnet und kurvenmäßig dargestellt. Betrachten wir zuerst den Einfluß der Vagusreizung auf den Sauerstoffverbrauch, so sehen wir, daß in der 60 Minuten dauernden Versuchsperiode, während der beide Vagi mit 0,4 mA gereizt wurden. der Sauerstoffverbrauch gegenüber der Vorperiode um 3 % zurückgegangen ist. In ccm O_2 ausgedrückt betrug er während der Vagusreizperiode im Mittel 21,12 ccm/Minute, während er in der vorausgehenden Normalperiode im Mittel 22,52 ccm/Minute betrug. 45 Minuten nach einer intravenösen Injektion von 0,05 ccm/kg des zur Sensibilisierung verwandten artfremden Serums werden beide Vagi wieder mit genau der gleichen Reizintensität von 0,4 mA gereizt. Die Abnahme des O_2-Verbrauchs ist diesmal etwas geringer als während der ersten Vagusreizperiode,

sie beträgt 2,5 %. 50 Minuten nach einer zweiten Serumreinjektion von 0,05 ccm/kg wird der O_2-Verbrauch während einer 55 Minuten dauernden Vagusreizperiode schon um 6,7 % gesenkt. Nach einer dritten Serumreinjektion sinkt der O_2-Verbrauch während der Vagusreizperiode um 14,2 %, und schließlich nach einer vierten Serumreinjektion nimmt der O_2-Verbrauch während der Vagusreizperiode um 22,1 % ab. Es geht aus diesen Zahlen klar hervor, daß der den O_2-Verbrauch senkende Einfluß der Vagusreizung am sensibilisierten Tier nach jeder weiteren Zufuhr von Antigenen beträchtlich zunimmt. Betrachten wir nun die Wirkung von Adrenalindauerinfusionen auf den Sauerstoffverbrauch des Spinaltieres, so sehen wir, daß zu Beginn des Versuchs noch vor der ersten Serumreinjektion der O_2-Verbrauch durch eine Adrenalindauerinfusion von 2,75 γ/Minute gegenüber der Vorperiode um 4,2 % erhöht wird. Nach der ersten Seruminjektion nimmt der O_2-Verbrauch während einer Adrenalindauerinfusion mit gleichen Adrenalinmengen um 13,5 % zu. Nach der zweiten Serumreinjektion beträgt die Zunahme des O_2-Verbrauchs während der Adrenalindauerinfusion nur 5 % und schließlich nach der dritten Serumreinjektion nur noch 3,4 %. Nach der vierten Serumreinjektion steigt der O_2-Verbrauch unter der Adrenalindauerinfusion von 2,75 γ/Minute um 36 % an. Diese enorme Zunahme ist, wie aus der Abb. 6 hervorgeht, verursacht durch den rapiden Abfall des O_2-Verbrauchs im Anschluß an die vierte Serumreinjektion und muß deshalb gesondert gewertet werden. Wir sehen also, daß die den O_2-Verbrauch steigernde Wirkung von Adrenalin nach der ersten Serumreinjektion am stärksten ist und nach jeder weiteren Serumreinjektion zurückgeht. Es ist noch darauf hinzuweisen, daß von den drei ersten Serumreinjektionen kein unmittelbarer Einfluß auf den O_2-Verbrauch festgestellt werden konnte, dagegen kam es im Anschluß an die vierte Serumreinjektion zu einer hochgradigen Abnahme des O_2-Verbrauchs.

Die Tatsache, daß trotz gleichbleibender Vagusreizstärke im Verlauf des Versuchs nach jeder Serumreinjektion die den O_2-Verbrauch senkende Wirkung zunimmt, zeigt, daß am allergischen Tier gewisse quantitative Beziehungen zwischen der Menge des zugeführten Antigens und dem Grad der durch die Antikörper-Antigenreaktion hervorgerufenen Erregbarkeitssteigerung der Organzellen gegenüber Vagusreizen bestehen. Da bei Reizung mit gleichbleibenden Intensitäten an den Nervenendigungen des Vagus in der Zeiteinheit stets gleiche Mengen Azetylcholin gebildet werden, so müssen durch die wiederholte Antigenzufuhr an den Zellen der Erfolgsorgane die Wirkungsbedingungen für den Überträgerstoff eine zunehmende Änderung erfahren. Diese Änderung ist nach dem früher Gesagten wohl am wahrscheinlichsten in einer Herabsetzung der Durchlässigkeit der Zellgrenzflächen zu suchen, durch die an den Körperzellgrenzflächen eine Erhöhung des Azetylcholinkonzentrationsgefälles und damit eine Verstärkung der Azetylcholinwirkung zustande kommt.

Während die ersten drei Serumreinjektionen einen unmittelbaren merklichen Einfluß auf den O_2Verbrauch des Spinaltieres nicht erkennen ließen, und die nach jeder Antigenzufuhr zunehmende Erregbarkeitssteigerung erst durch die nachfolgende Vagusreizung in Erscheinung trat, sehen wir von der vierten Serumreinjektion einen unmittelbaren Einfluß auf den O_2-Verbrauch. Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß von den im sensibilisierten Orgainsmus gebildeten Antikörpern der größere Teil im Blut zirkuliert und nur der kleinere Teil zellständig ist. Wir müssen uns nun vorstellen, daß nach der ersten Antigenreinjektion der allergrößte Teil der zugeführten Antigenmenge von den im Blut zirkulierenden Antikörpern abgefangen wird, und nur der kleinste Teil zur Reaktion mit den zellständigen Antikörpern gelangt. Die als Folge der Antikörper-Antigenvereinigung an den Zellgrenzflächenkolloiden eintretenden physikalisch-chemischen Zustandsänderungen, die nach unserer oben mitgeteilten Auffassung zur Verminderung der Grenzflächendurchlässigkeit führen, sind folglich nach der ersten Antigenzufuhr noch minimal. Wenn aber alle im Blut zirkulierenden Antikörper durch mehrmals zugeführtes Antigen abgesättigt sind, so kann die ganze zugeführte Antigenmenge mit vielleicht allen zellständigen Antikörpern in Reaktion treten. Dies könnte in unserem Versuch nach der vierten Serumreinjektion der Fall gewesen sein. Denn nach der vierten Reinjektion scheinen die durch die Antikörper-Antigenreaktion hervorgerufenen kolloidalen Zustandsänderungen in den Zellgrenzflächen besonders hochgradig gewesen zu sein. Da nach den Untersuchungen vor allem von H. Gremels[6] nach Ausschaltung des Vaguszentrums der periphere Teil des vagischen Systems, besonders in seinen peripheren in den Erfolgsorganen liegenden Ganglien, die Fähigkeit besitzt, noch über viele Stunden hin kleinste Mengen von Azetylcholin zu bilden, so kann die Wirkung dieser Azetylcholinmengen dann sehr zunehmen, wenn für sie an den Zellgrenzflächen besonders günstige Wirkungsbedingungen entstehen. Da die an den Zellgrenzflächen sich abspielenden Antikörper-Antigenreaktionen, wie bereits mehrmals erwähnt wurde, derartig günstige Bedingungen für den Überträgerstoff herbeiführen, so können wir die nach der vierten Serumreinjektion beobachtete starke O_2-Verbrauchssenkung als die Folge einer gesteigerten Acetylcholin-, d. h. Vaguswirkung ansehen. Wie aus Abb. 6 zu ersehen war, war nach der ersten Serumreinjektion die durch die Adrenalindauerinfusion hervorgerufene Sauerstoffverbrauchssteigerung wesentlich höher als im Vorversuch. Sie nahm aber im Verlauf des Versuchs trotz Zufuhr stets gleichbleibender Adrenalinmengen wieder ab. Zur Erklärung dieses Befundes dürfen wir auf die schon oben gemachten Ausführungen verweisen, wonach bei mäßig gesteigerter Vaguserregbarkeit auch die Adrenalinwirkung gesteigert ist. Andererseits nimmt bei hochgradiger Vaguserregbarkeit die Adrenalinwirkung stark ab, weil jetzt der größere Teil des zugeführten Adrenalins dazu beansprucht wird, die Vaguserregbarkeit auf die Norm herabzusetzen, so daß nur der kleinere Teil des

zugeführten Adrenalins für die eigentliche sympathicotrope Wirkung zur Verfügung bleibt.

Wenden wir uns nun den Änderungen des Blutzuckerspiegels zu, so sehen wir, daß während der ersten Vagusreizperiode der Blutzuckerspiegel pro Minute um 0,1 mg% sinkt. Nach der ersten Serumreinjektion beträgt die Senkung des Blutzuckerspiegels pro Minute während der Vagusreizung 0,75 mg%, nach der zweiten Serumreinjektion 0,81 mg% und nach der dritten sogar 1,11 mg%. Nach der vierten Serumreinjektion senkt sich der Blutzuckerspiegel während der Vagusreizperiode nur um 0,71 mg% pro Minute. Wenn auch die absolute Abnahme gegenüber der vorausgehenden Vagusreizperiode geringer ist, so ist aber zu bedenken, daß noch zu Beginn der vorletzten Vagusreizperiode der Blutzuckerspiegel 284 mg% betrug, während er zu Beginn der letzten Vagusreizperiode nur noch 171 mg% betrug, also in der Zwischenzeit um 113 mg%, d. h. um 40 % gesunken war. Bezogen auf den Ausgangswert des Blutzuckerspiegels ist also die relative Senkung des Blutzuckers während der letzten Vagusreizperiode noch stärker gewesen als während der vorletzten. Wir sehen, daß auch die blutzuckersenkende, die Glykogensynthese in der Zelle fördernde Vagusfunktion durch die Allergie eine Steigerung erfährt.

Betrachten wir nun noch die durch Adrenalindauerinfusionen hervorgerufenen Änderungen des Blutzuckerspiegels, so sehen wir, daß nach der ersten, zweiten und dritten Serumreinjektion die Dauerinfusion von 2,75 γ Minute Adrenalin den Blutzuckerspiegel bedeutend stärker erhöht als die gleiche Menge Adrenalin vor der ersten Serumreinjektion. Es scheint, als sei durch die Antikörper-Antigenreaktion eine Empfindlichkeitssteigerung der glykogenreichen Organzellen gegenüber Adrenalin eingetreten. Doch ist diese Beobachtung noch nicht beweisend, weil auf die Höhe des Blutzuckers die Hormone des Pankreas und der Nebenniere bekanntlich einen starken Einfluß ausüben, so daß zur Klärung dieser Frage Versuche an pankreas- bzw. nebennierenlosen Spinaltieren notwendig wären. Sehr auffallend ist die nach der vierten Serumreinjektion zu beobachtende Umkehr der Adrenalinwirkung auf den Blutzuckerspiegel. Um diese Beobachtung erklären zu können, muß auf die Befunde von H. Gremels und H. Gremels und F. Zinnitz[6] hingewiesen werden, die feststellen konnten, daß kleine Adrenalinmengen im Gegensatz zu größeren neben einer Sauerstoffverbrauchssenkung auch eine Senkung des Blutzuckers hervorrufen. Gremels konnte zeigen, daß diese assimilatorische Wirkung kleiner Adrenalinmengen stets in einer gewissen Beziehung steht zur Vagustätigkeit. Denn wenn ein gesteigerter Vagustonus vorlag, hatten auch größere Adrenalinmengen, die bei normalem Vagustonus eine Erhöhung des Blutzuckerspiegels bewirkten, eine blutzuckersenkende Wirkung. Gremels nimmt an, daß bei hohem Vagustonus die primäre Adrenalinwirkung nicht zum Durchbruch kommt gegen den gesteigerten Vagustonus, aber andererseits durch die Zufuhr des Adrenalins

der Antagonist, also der Vagus, zu gesteigerter Tätigkeit angeregt wird. Aus diesen Beobachtungen von Gremels können wir auf unsere Versuchsergebnisse bezugnehmend wiederum schließen, daß nach der vierten Serumreinjektion ein Zustand aufs höchste gesteigerter Vaguserregbarkeit eingetreten sein muß, so daß Adrenalinmengen, die vorher noch blutzuckersteigernd wirkten, jetzt den Blutzucker senken, indem sie ihre primäre Wirkung vermissen lassen, aber andererseits den antagonistisch wirkenden Vagus anregen. Diese Beobachtung, daß an einem sensibilisierten Spinaltier mehrere Stunden nach der Antigenreinjektion Adrenalinmengen den Blutzuckerspiegel senken, die vor und in den ersten Stunden nach der Antigenreinjektion noch eine erhebliche Steigerung des Blutzuckerspiegels bewirkten, konnten wir in mehreren Versuchen machen. Sie ist also kein Zufallsbefund, sondern erklärt sich aus dem Wesen der Allergie, das nach unserer Auffassung darin besteht, daß am sensibilisierten Tier nach parenteraler Antigenzufuhr sämtliche vegetativ innervierten Körperzellen in zunehmendem Maße gegenüber Vagusreizen empfindlicher werden.

Zusammenfassende Besprechung.

Die oben mitgeteilten Untersuchungen gaben einen Einblick in die Beziehungen des vegetativen Nervensystems zur Allergie. Wie wir gesehen haben, wird die gegen ein spezifisches Allergen sensibilisierte Körperzelle durch parenterale Reinjektion des gleichen Antigens in spezifischer Weise umgestimmt. Diese Umstimmung äußert sich an den vom vegetativen Nervensystem innervierten Organzellen in einer Erregbarkeitssteigerung gegenüber vegetativen Reizen, insbesondere gegenüber Vagusreizen; am Vaguszentrum ebenfalls in einer Erregbarkeitssteigerung und einer damit einhergehenden Steigerung seines Tätigkeitszustandes. Als Folge der gesteigerten Erregbarkeit der Organzellen und des gesteigerten Funktionszustands des Vaguszentrums ist in der Allergie der Vagustonus erhöht. Es kann aus den Versuchsergebnissen geschlossen werden, daß die durch die Antikörper-Antigenreaktion hervorgerufene Umstimmung in der Vaguserregbarkeit der Organzellen die Steigerung des Tätigkeitszustandes des Vaguszentrums und die damit einhergehende Zunahme des physiologischen Vagustonus sich im Anschluß an die Antigenreinjektion langsam im Verlauf von Stunden zur vollen Stärke entwickeln. Dabei scheinen, wie aus den Versuchen an Spinaltieren hervorging, gewisse quantitative Beziehungen zu bestehen zwischen der Menge des zugeführten Antigens und dem Grad der Erregbarkeitssteigerung an den Körperzellen. Nach unserer Auffassung kann es in der Allergie dann spontan zu Funktionsstörungen in den peripheren Erfolgsorganen kommen, wenn nach stattgehabter Antikörper-Antigenreaktion der physiologische Vagustonus eine Höhe erreicht hat, in der er für die Organzelle einen überschwelligen Reiz darstellt. Oder aber es wird dann in der Allergie zu Organfunktionsstörungen kommen können, wenn bei bereits gesteigertem Vagustonus ein normaler-

weise unwirksamer zusätzlicher, den Vagustonus steigernder Reiz hinzutritt, so daß die Reizschwelle des Erfolgorgans überschritten wird und es zu einer Änderung der Funktionslage des betreffenden Organs kommt. Als derartige Zusatzreize können alle das Vaguszentrum erregende Reize wirksam sein. Daß dieser Entstehungsmechanismus allergiebedingten Krankheiten, wie z. B. dem allergischen Asthma bronchiale, zugrunde liegen kann, konnte durch zwei Versuchsbeispiele belegt werden (Abb. 4 und 5). Der in der Allergie erhöhte Vagustonus kann außer durch Adrenalin auch durch Narkotica herabgesetzt werden. Die Narkotica greifen am Vaguszentrum an und hemmen dort die Reizbildung, so daß Zahl und Stärke der vom Vaguszentrum ausgehenden Erregungsimpulse unter dem Einfluß der Narkotica herabgemindert sind. Im Gegensatz also zum peripher angreifenden Adrenalin, das als antagonistisch wirkende Überträgersubstanz den peripheren Vagustonus herabsetzt, hemmen die Narkotica den gesteigerten Tätigkeitszustand des Vaguszentrums.

Die Stoffwechselversuche an Spinaltieren haben gezeigt, daß auch die den Zellstoffwechsel steuernden Funktionen des vegetativen Nervensystems durch die allergische Reaktion quantitativ verändert werden können. Aus der Umkehr der Adrenalinwirkung auf den Blutzuckerspiegel, wie sie mehrere Stunden nach Auslösung der Antikörper-Antigenreaktion in Stoffwechselversuchen zu beobachten war, kann man vermuten, daß es durch die Allergie auch zu qualitativen Veränderungen der stoffwechselsteuernden Funktionen des vegetativen Nervensystems kommen kann. Über die mögliche Bedeutung dieser Befunde für die Pathologie allergischer Erkrankungen kann heute noch nichts gesagt werden.

Das Wesen der durch die Antikörper-Antigenreaktion hervorgerufenen Erregbarkeitssteigerung besteht nach unserer Auffassung darin, daß durch die Vereinigung von Antigenen mit den zellständigen spezifischen Antikörpern wahrscheinlich infolge elektrischer Entladungsvorgänge der eukolloide Zustand in den Zellgrenzflächen gestört wird. Da es sich dabei um physikalisch-chemische Vorgänge handeln muß, die der in vitro beim Zusammenbringen von spezifischem Antigen mit antikörperhaltigem Serum stattfindenden Präzipitation qualitativ gleichen müssen, aber quantitativ weniger stark sind, so ist in erster Linie zu denken an eine Verminderung des Quellungszustands und einer damit einhergehenden Abnahme des Dispersitätsgrades der Zellgrenzflächenkolloide. Nach früheren Untersuchungen von uns[15] bedingen derartige physikalisch-chemische Zustandsänderungen in den Zellgrenzflächen eine Abnahme der Zellmembrandurchlässigkeit. Durch die Abnahme der Permeabilität der Zellgrenzflächen werden aber, wie ebenfalls von uns[15] bewiesen werden konnte, an den Zellgrenzflächen Bedingungen geschaffen, die die Wirkung des Vagusüberträgerstoffs Azetylcholin erhöhen, weil es auch bei gleichbleibender Überträgerstoffbildung an den Nervenendigungen an weniger durchlässigen Zellgrenzflächen zur Ausbildung eines steileren

Azetylcholinkonzentrationsgefälles kommt. Je höher aber das Azetylcholinkonzentrationsgefälle, um so stärker die Wirkung des Überträgerstoffs auf die Erfolgsorganzelle.

Zusammenfassung.

Katzen wurden mit artfremdem Serum sensibilisiert. 3—5 Wochen nach der Sensibilisierung erfolgte die intravenöse Reinjektion des gleichen artfremden Serums. Nach der Reinjektion ergab sich eine Erregbarkeitssteigerung der vom N. Vagus innervierten Erfolgsorganzellen gegenüber Vagusreizen, eine Zunahme des Tätigkeitszustandes des Vaguszentrums und eine starke Erhöhung des Vagustonus. Die Tatsache eines gesteigerten Vagustonus konnte durch Untersuchungen am Reizbildungssystem des Herzens, am Gefäßsystem und an der Bronchialmuskulatur nachgewiesen werden. Die Zunahme der Vaguserregbarkeit der Erfolgsorganzellen konnte durch Untersuchungen an Spinaltieren einwandfrei nachgewiesen werden. Das Wesen der durch die Antikörper-Antigenreaktion hervorgerufenen Vagusübererregbarkeit wird damit erklärt, daß durch die Vereinigung des Antigens mit den zellständigen Antikörpern auf dem Weg über eine Herabsetzung der Zellgrenzflächendurchlässigkeit die Wirkungsbedingungen für den chemischen Überträgerstoff der Vaguswirkung eine Steigerung erfahren.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über die pharmakologische Beeinflussung der Senfölentzündung.

Von

H. Hofmann.

(Eingegangen am 20. Juli 1940.)

I.

Aseptische Entzündungen können durch die verschiedensten therapeutischen Maßnahmen beeinflußt werden. Nach Starkenstein[1] genügt zur Auslösung einer antiphlogistischen Wirkung ganz allgemein, daß ein einziges, dem primären Entzündungsreiz folgendes Symptom aus dem gesamten Symptomenkomplex beseitigt oder in seiner Entwicklung unterbrochen wird, um das Fortschreiten der Entzündung zu verhindern oder die bereits vorhandenen Erscheinungen völlig abklingen zu lassen. Unter den für die Entzündungsbekämpfung zur Verfügung stehenden Pharmaka kommt den Analgetica und Anaesthetica eine besondere Rolle zu.

Nach Spiess[2] wird die antiphlogistische Wirkung von Anaesthetica durch eine Blockierung des sensiblen Reizes hervorgerufen, die zur Ausschaltung der im Wege eines Axonreflexes nach den Gefäßen laufenden Entzündungsreize führt (Bruce[3]). In dieser Form konnten alle jene Versuchsergebnisse befriedigend erklärt werden, in denen in Erweiterung der Befunde von Spiess und Bruce eine entzündungshemmende Wirkung von lokalanäthetischen Substanzen beschrieben wurde [4, 5].

Die antiphlogistische Wirkung von Zentralanalgetica[6] war nicht ohne weiteres mit der von Spiess aufgestellten Theorie zu erklären, die zunächst speziell die Wirkung der Lokalanaesthetica betraf. Für die Ausbildung der entzündungshemmenden Wirkung der Antipyretica aus der Gruppe des Chinins dürfte nach Binz[7] die Beeinflussung des Gewebsstoffwechsels und der Leukocyten, nach Schepelmann[8] weiterhin die lokalanästhetische Wirkungskomponente (im Sinne von Spiess und Bruce) verantwortlich zu machen sein. Die antiphlogistische Wirkung des Atophans versuchte Fürst[9] durch die excessive Verminderung der Hauttemperatur zu erklären.

[1]) Starkenstein, E.: Lehrb. d. Pharmakol. **1938**, S. 658. — [2]) Spiess, G.: Münch. med. Wschr. **1906**, S. 345; Arch. f. Laryngol. **21**, 120 (1908). — [3] Bruce, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **63**, 424 (1910). — [4] Meyer, H. H., u. P. Freund: Dtsch. med. Wschr. **48**, 1243 (1922). — [5] Freund, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **97**, 54 (1923). — [6] Lit. bei Meyer u. Gottlieb: Exper. Pharmakol. **1933**, S. 644. — [7] Binz, K.: Virchows Arch. **46**, 67 (1862). — [8] Schepelmann, K.: Ther. Gegenw. **52**, 545 (1911). — [9] Fürst, Käte: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **105**, 238 (1925).

Ihre Versuchsergebnisse, die eine Temperatursenkung erst nach toxischen Atophandosen zeigten, deuteten jedoch darauf hin, daß die Beeinflussung der Temperatur wahrscheinlich von nur untergeordneter Rolle sein dürfte. Starkenstein[10] zeigte später, daß die durch Atophan hervorgerufene Entzündungshemmung durch eine Änderung der elektrostatischen Gewebsladung zustande kommt. Ebenfalls ohne Zuhilfenahme der eigentlichen zentralen Wirkungskomponente wurde von Rosenbach[11] und Amsler[12] die antiphlogistische Wirkung des Morphins durch eine periphere Zellwirkung erklärt.

Die durch Narkotica hervorgerufene Entzündungshemmung, die wohl zuerst Shimura[13] beschrieb, wurde ebenfalls von Lipschitz nicht durch eine zentrale Herabsetzung der Erregbarkeit erklärt. Nach Untersuchungen von Peng[14] tritt nach der Zufuhr von Urethan eine Entzündungshemmung dann in Erscheinung, wenn eine deutliche Verminderung der Lungenventilation nachweisbar ist. Guggenheim[15] zeigte in Erweiterung dieser Befunde, daß eine antiphlogistische Wirkung auch nach der Zufuhr eines Narkoticum eintritt, dem bei geringer allgemeinnarkotischer Wirkung eine starke Dämpfung der Atmung zukommt (Novonal). Auf der anderen Seite beobachtete er eine deutliche Entzündungssteigerung nach Forcierung der Atmung durch Analeptica (Cardiazol) bzw. nach künstlicher Beatmung des Versuchstieres. Weiterhin konnte von Winkler[16] nachgewiesen werden, daß die durch Narkotica hervorgerufene antiphlogistische Wirkung auch nach der Zufuhr von Br-Ionen in Erscheinung tritt und daß diese auch noch mehrere Tage nach Abklingen der Narkose nachweisbar ist. Diese Versuchsergebnisse deuteten auf eine Wirkung hin, die ihre Erklärung in einer Veränderung des Blut- bzw. Gewebschemismus finden konnte. Tatsächlich konnte Fröhlich[17] zeigen, daß nach der Zufuhr von Urethan in einer Dosis, nach der Peng und Guggenheim Entzündungshemmung beobachteten, Blut-p_H erhöht und die CO_2-Bindungskurve des Plasmas nach oben verschoben wurden. Danach wurde die antiphlogistische Wirkung der Narkotica von Lipschitz durch eine Veränderung des Blut- bzw. Gewebschemismus im Sinne einer Erhöhung der Blut- und Erniedrigung der Gewebsalkaleszenz erklärt[18]. Die zentrale Ausschaltung sensibler Reize wurde für die Erklärung des Wirkungsmechanismus nicht herangezogen.

Gelegentlich von Versuchen, die wir mit Basisnarkotica durchführten, beobachteten wir am Kaninchen eine Hemmung der aseptischen Senfölentzündung, die nicht völlig in Einklang mit der von Lipschitz auf-

[10] Lit. bei Starkenstein, E.: Hdb. norm. u. path. Physiol. **13**, 340 (1929). — [11] Rosenbach, O.: Münch. med. Wschr. **1906**, S. 857. — [12] Amsler, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **166**, 295 (1932). — [13] Shimura, K.: Virchows Arch. **251**, 161 (1924). — [14] Peng, D.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **151**, 270 (1930). — [15] Guggenheim, K.: Ebenda **151**, 279 (1930). — [16] Winkler, H.: Ebenda **151**, 302 (1930). — [17] Fröhlich, H.: Ebenda **151**, 323 (1930). — [18] Lipschitz, W.: Ebenda **138**, 163 (1928); **151**, 267 (1930).

gestellten Theorie zu bringen schien. In diesen Fällen sahen wir eine deutliche Entzündungshemmung eintreten, wenn die Lungenventilation der narkotisierten Tiere nicht oder nur unbedeutend vermindert war. Das Ausmaß der in diesen Versuchen beobachteten antiphlogistischen Wirkung erschien hierbei von der Tiefe der Narkose, insbesondere von dem Grad der erreichten Analgesie abhängig zu sein.

Wir haben diese Verhältnisse in mehreren Versuchsreihen näher studiert und berichten im folgenden darüber.

2. Methode.

Zu den Versuchen benutzten wir Kaninchen, deren Rückenhaut 24 Stunden vor Versuchsbeginn rasiert wurde. Es wurden nur pigmentierte Tiere verwendet. Die Entzündung wurde ausschließlich mit Senföl gesetzt, die dabei benutzte Methode war ähnlich der von Laubender[19] und Lämmerhirt[20] benutzten. Es wurde den Tieren eine aus drei Lagen Leukoplast zusammengeklebte Schablone auf dem rasierten Rücken fixiert, in die 10 Pfennigstück-große Löcher eingestanzt waren. Auf diese Stellen wurden mit reinem, unverdünnten Senföl getränkte Zellstofftampons aufgelegt. In den Versuchsreihen, die wir später durchlaufend mit „V. I" bezeichnen, betrug die direkte Einwirkungszeit 10 Minuten, in den mit „V. II" bezeichneten Versuchen 15 Minuten. Danach wurde das noch auf der Hautoberfläche befindliche Senföl mit einem in Wasser getauchten Tupfer vorsichtig entfernt. Die Applikation des Senföls erfolgte in allen Versuchen unmittelbar nach Eintritt der narkotischen Wirkung. In den Versuchen mit Basisnarkotica etwa 2 Minuten nach der intravenösen Injektion, bei denen mit Veronal-Na (intravenös) nach etwa 35—40 Minuten, nach Urethan (subc.) nach 60 Minuten.

Die Hautreaktion der einzelnen Tiere wurde in Vorversuchen geprüft. Vergleichende Untersuchungen wurden stets an symmetrischen Partien der Rückenhaut angestellt. Der Entzündungseffekt wurde 5 Stunden nach dem Aufbringen des Senföls festgestellt. Wir verwendeten zum Vergleich eine Skala von roten Farbmarken. Der Grad der in den einzelnen Versuchen erreichten Entzündungsreaktion wird in den tabellarischen Zusammenstellungen folgendermaßen ausgedrückt: Die hyperämische Reaktion des normalen, nicht narkotisierten Tieres wird durch $+++$, eine deutlich geringere Inflammation mit $++$, schwache Rötung mit $+$ und normale, also keinerlei Reaktion zeigende Haut mit 0 bezeichnet. Zwischenstufen wurden durch entsprechende $(+)$ angezeigt. Eine deutlich stärker als „normale" Entzündung wurde durch $++++$ charakterisiert.

Die Messung der Atmung erfolgte durch eine von uns modifizierte Methode von Wright[21]. Das Versuchstier atmet hierbei durch eine festsitzende Gummimaske über Gildemeister-Ventile und zieht sich seine Inspirationsluft aus einem Spirometer, das während der Dauer der Exspiration stets wieder bis zu einem Anschlag gefüllt wird. Es wird also jeder einzelne Atemzug quantitativ registriert. Über Einzelheiten der Methode berichten wir an anderer Stelle. In den folgenden Tabellen geben wir das Maximum der in den einzelnen Versuchen beobachteten Veränderungen der Lungenventilation an. Der Grad der erreichten Narkose wird nach dem bekannten Girndtschen Schema[22] angeführt.

---

[19] Laubender, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 34 (1932). — [20] Lämmerhirt, F.: Ebenda **180**, 52 (1936). — [21] Wright, S.: J. Physiol. (Brit.) **80**, 28P (1934). — [22] Girndt, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **164**, 118 (1932).

3.

Wir berichten zunächst über Versuche mit Rectidon (Na-Amyl-β-bromallyl-malonylharnstoff). Dieses Narkoticum führt bei intravenöser Injektion von 0,25 ccm/kg der 10%igen stabilisierten Lösung am Kaninchen zu sofortigem Eintritt der Seitenlage (SL.) und einer 2 Stunden andauernden, für alle operativen Eingriffe voll ausreichenden Narkose. Die Lungenventilation der Tiere wurde in unseren Versuchen nach der Seitenlagendosis (SLD.) nicht beeinflußt, höhere Gaben verursachten eine Verminderung um maximal 10%.

Tabelle 1. Entzündungsreaktion nach intravenöser Zufuhr von Rectidon (10%ige stabil. Originallösung).

Dosis	Narkosestadium		Dauer der SL.		Analgesie *		Veränderung der Lungenventilation		Entzündungsreaktion	
ccm/kg	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II
0,12	– I	– I	–	–	–	–	0	+ 5 %	+++	+++
0,18	– II	II	–	–	–	–	0	0	+++	++ (+)
0,225	III	– IV	–	35′	–	±	+ 5 %	0	+++	++ (+)
0,25	– IV	IV	90′	80′	+	+	0	0	+ (+)	++
0,3	IV	IV	180′	210′	+	+	– 10 %	– 10 %	+	+

* Analgesie vorhanden = +; unsicher = ±; nicht vorhanden = –.

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß wir nach der Zufuhr der SLD. eine deutlich geringere als normale hyperämische Reaktion beobachten konnten. In beiden Versuchen war hierbei die Atmung der Tiere nicht meßbar beeinflußt. Es bestand jedoch absolute Analgesie. Nach der Über-SLD. von 0,3 ccm/kg war der Unterschied gegenüber der normalen Reaktion noch stärker ausgeprägt, in diesen beiden Versuchen war allerdings neben einer völligen Empfindungslosigkeit eine geringe Verminderung der Lungenventilation vorhanden. Die in Versuchsgruppe 2 beobachtete geringe Hemmung nach Unter-SLD. ist unsicher. Diese Versuche bestätigten also unsere Beobachtung, daß es zur Ausbildung einer antiphlogistischen Wirkung kommen kann, wenn keine oder nur eine unbedeutende Verminderung des Atemvolumens nachweisbar ist. Scheinbar gilt als Voraussetzung für eine derartige Wirkung das Vorhandensein einer völligen Empfindungslosigkeit. In den Fällen, in denen die Tiere einen operationsreifen Narkosegrad erreicht hatten, war in unseren Versuchen eine deutliche Entzündungshemmung nachweisbar.

Daß eine als sekundäre Folge der geringen Atmungshemmung auftretende Veränderung des Blut- bzw. Gewebschemismus (Lipschitz[18]) in den Versuchen, in denen wir eine geringe Verminderung der Lungenventilation beobachteten, sicher keine Rolle bei der Ausbildung der entzündungshemmenden Wirkung spielt, zeigten Kontrollversuche, in denen wir die Reaktion der Tiere 8 (V. I) bzw. 24 Stunden (V. II) nach dem

Narkoseversuch prüften. Wir beobachteten hierbei in allen Fällen eine der Norm entsprechende hyperämische Reaktion. Nach den Befunden von Winkler[16] müßte aber für den Fall, daß eine Beeinflussung der Lungenventilation als ursächliches Moment der Entzündungshemmung anzusehen wäre, eine derartige Wirkung noch nach längerer Latenzzeit nachzuweisen gewesen sein.

Unsere Befunde wurden weiterhin in Versuchen mit Evipan-Na bei subcutaner und intravenöser Zufuhr nachgeprüft. Nach der subcutanen Injektion tritt die SL. nach 15 Minuten, nach intravenöser Gabe während der langsamen Injektion ein. Die Ergebnisse der Versuchsreihen sind in den Tabellen 2 und 3 zusammengestellt.

Tabelle 2. Entzündungsreaktion nach subcutaner Injektion von Evipan-Na (10%ige Lösung).

Dosis	Narkosestadium		Dauer der SL.		Analgesie		Veränderung der Lungenventilation		Erholt nach		Entzündungsreaktion	
g/kg	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II
0,05	– I	I	–	–	–	–	+5%	0	3 h	4 h	+++	+++
0,08	– II	II	–	–	–	±	–5%	–10%	4 h	4 h	++ (+)	++ (+)
0,16	IV	– IV	90′	70′	+	±	–5%	0	4 h	4 h	+	+ (+)

Tabelle 3. Entzündungsreaktion nach intravenöser Injektion von Evipan-Na (10%ige Lösung).

Dosis	Narkosestadium		Dauer der SL.		Analgesie		Veränderung der Lungenventilation		Erholt nach		Entzündungsreaktion	
g/kg	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II
0,018	– III	II	15′	–	–	–	0	0	60′	45′	+++	+++
0,03	– IV	– IV	20′	20′	±	–	+ 5%	0	90′	100′	++	+++
0,045	IV	IV	30′	35′	±	–	+ 5%	+ 5%	90′	100′	++	+++
0,07	IV	IV	50′	47′	+	+	0	– 5%	120′	120′	+	+
0,1	– V	– V	70′	55′	+	+	– 10%	– 5%	120′	120′	+	+

Aus den Tabellen geht hervor, daß wir auch in diesen Versuchsreihen unseren früheren Beobachtungen analoge Befunde erheben konnten. Wir sehen Entzündungshemmung in Versuchen, in denen keine Beeinflussung der Atmung nachweisbar ist. Das Auftreten der antiphlogistischen Wirkung scheint auch hier parallel dem Grad der erreichten Analgesie zu gehen. Dieses Verhalten tritt besonders auffällig in Versuchsgruppe II nach intravenöser Gabe von 70 mg/kg in Erscheinung, wo eine besonders deutliche antiphlogistische Wirkung schlagartig mit dem Auftreten einer kompletten Analgesie zu beobachten war.

Auch in diesen Versuchsreihen konnten wir in Kontrollversuchen 12 Stunden nach dem Narkoseversuch keine Entzündungshemmung mehr beobachten.

Wir haben weiterhin Versuche mit Eunarcon bei intravenöser Zufuhr angestellt, deren Ergebnisse in Tabelle 4 zusammengestellt sind.

Tabelle 4. Entzündungsreaktion nach intravenöser Injektion von Eunarcon (10%ige Lösung).

Dosis	Narsekostadium		Dauer der SL.		Analgesie		Veränderung der Lungenventilation		Erholt nach		Entzündungsreaktion	
g/kg	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II
0,006	I	I	–	–	–	–	+ 10 %	0	25′	30′	+++	+++
0,01	– III	III	5′	5′	–	–	0	– 5 %	45′	40′	+++	+++
0,015	III	– IV	5′	7′	±	±	+ 5 %	0	40′	45′	+++	++(+)
0,02	IV	IV	8′	9′	+	±	– 5 %	+ 10 %	30′	35′	++	+++
0,03	IV	IV	5′	9′	±	∓	0	0	40′	45′	++	+++
0,04	IV	– V	10′	10′	+	+	– 5 %	0	40′	60′	++	+++
0,05	IV	IV	15′	15′	+	+	– 10 %	– 5 %	60′	60′	+ (+)	++

Die entzündungshemmende Wirkung war in diesen Versuchen nur gering. Wir glauben, daß die außerordentlich kurze Wirkung des Eunarcons in ursächlichen Zusammenhang mit der geringen antiphlogistischen Wirkung zu bringen ist. Die direkte Einwirkung des Senföls überdauerte in Versuchsgruppe II in allen Versuchen außer dem mit 0,05 g/kg die SL. Es ist auffällig, daß wir in dieser Gruppe auch nur in diesem einen Versuch eine eben deutliche Hemmung beobachteten. In Gruppe I, bei der die direkte Einwirkungszeit 10 Minuten betrug, sahen wir bei dieser Dosierung eine stärkere Hemmung. Interessanterweise sahen wir nach Gaben von 20 und 30 mg/kg hier eine deutlich verminderte hyperämische Reaktion, obwohl die direkte Einwirkung des Senföls in diesen Versuchen die Dauer der SL. überdauerte.

Die in diesen Versuchen beobachteten Veränderungen der Lungenventilation überdauerten in keinem Falle die Narkoticumwirkung. Veränderungen des Blut- bzw. Gewebschemismus im Sinne der Lipschitzschen „Säuretheorie“ der Entzündungshemmung waren von vornherein als Faktoren der in diesen Versuchen beobachteten antiphlogistischen Wirkung als unwahrscheinlich anzusehen. In der Tat ergab die Prüfung der mit 30—50 mg/kg behandelten Tiere 12 Stunden nach dem Narkoseversuch eine normale Reaktion.

Die von uns verwendete Dosis von 50 mg/kg liegt im Bereich der tödlichen Gabe. 2 von 4 Tieren starben wenige Minuten nach der Injektion dieser Dosis unter Atemstillstand. Die antiphlogistische Wirkungsstärke des Eunarcons ist demnach nur gering, denn es ist nicht möglich, durch Erhöhung der Narkoticumdosis noch eine günstigere Wirkung zu erzielen.

4.

Es interessierte uns weiterhin, welche Rolle die Zentralanalgesie für die Ausbildung einer antiphlogistischen Wirkung langwirkender Narkotica

spielt. Zur Untersuchung dieser Frage haben wir Versuche mit Urethan und Veronal-Na durchgeführt.

Bei orientierenden Versuchen mit Urethan beobachteten wir nach der subcutanen Gabe von 0,5 g/kg bei 1 von 3 Tieren eine eben deutliche Entzündungshemmung (++), während die beiden anderen keine einwandfrei verminderte hyperämische Reaktion zeigten. Bei dieser Dosierung beobachteten Peng[14] in allen, Guggenheim[15] in $^2/_3$ der Fälle eine antiphlogistische Wirkung. In unseren Versuchen bestand bei diesen Gaben nur bei dem einen Tier, das eine Hemmung zeigte, eine etwas geringere Empfindlichkeit gegen Schmerzreize, die beiden anderen Tiere zeigten eine geringe Hyperalgesie. Die Lungenventilation war um 15, 17, 10%; $M = 14\%$ unter die Norm gesenkt. Hierbei zeigte das Tier mit der Verminderung der Atmung um 10% die deutliche Entzündungshemmung. Nach der Zufuhr von 1,2 g/kg beobachteten wir bei 2 von 3 Tieren Entzündungshemmung (+). In diesem Falle betrug die Verminderung der Lungenventilation im Mittel -27%. Bei den beiden Tieren, die eine verminderte hyperämische Reaktion zeigten, bestand völlige Analgesie, das dritte Tier reagierte auf Schmerzreize und zeigte nur eine undeutliche Entzündungshemmung.

Auch diese Versuche sprechen dafür, daß der zentralen Ausschaltung sensibler Reize durch das Urethan eine besondere Rolle im Mechanismus der Entzündungshemmung zukommt. Die Prüfung der Reaktion der Tiere 12 Stunden nach dem Versuch ergab, daß bei allen 6 die hyperämische Reaktion etwas geringer als normal war, der Unterschied war jedoch so gering, daß er in die normale Streuungsbreite fiel, so daß diese Hemmung als unsicher angesehen werden muß. Dieser Befund deutet darauf hin, daß der von Lipschitz beschriebene Wirkungsmechanismus in diesen Versuchen nicht oder nur in geringem Maße für die Ausbildung der antiphlogistischen Wirkung verantwortlich zu machen ist. Es wird anzunehmen sein, daß die in unseren Versuchen beobachtete Atmungshemmung zu gering war, um zu einer noch nach längerer Latenzzeit nachweisbaren Entzündungshemmung zu führen.

Wir haben aus diesem Grunde Versuche mit Veronal-Na angestellt, das erfahrungsgemäß in höheren Dosierungen zu einer erheblichen Verminderung der Lungenventilation führt. Um alle, durch ungleichmäßige Resorption hervorgerufenen Versuchsfehler zu eliminieren, erfolgte die Zufuhr durch langsame intravenöse Injektion. Die Seitenlage tritt hierbei nach etwa 30 Minuten ein. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

Es ist auffällig, daß auch in diesen Versuchen, besonders in Reihe I, die antiphlogistische Wirkung schlagartig einsetzt. In diesen Versuchen war aber neben der Ausbildung einer völligen Analgesie in diesen Fällen noch eine erhebliche Verminderung der Atmung zu beobachten. Die Reaktion der Tiere, die 24 Stunden nach Beendigung der SL. geprüft wurde,

Tabelle 5. Entzündungsreaktion nach intravenöser Zufuhr von Veronal-Na (10 %ige Lösung).

Dosis	Narkosestadium		Dauer der SL.		Analgesie		Veränderung der Lungenventilation		Erholt nach		Entzündungsreaktion	
g/kg	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II	V. I	V. II
0,05	– I	I	–	–	–	–	+ 10 %	+ 5 %	12 h	12 h	+++	+++
0,1	I	II	–	–	–	–	+ 10 %	+ 10 %	12 h	12 h	+++	+++
0,15	II	II	–	–	–	–	+ 5 %	0	24 h	24 h	+++	++(+)
0,24	– III	III	4 h	5 h	–	±	– 10 %	– 15 %	24 h	24 h	+++	++
0,3	IV	– V	8 h	8 h	+	+	– 20 %	– 30 %	36 h	36 h	+	+
0,35	– V	V	24 h	22 h	+	+	– 50 %	– 40 %	3 Tg.	4 Tg.	(+)	0
0,4	V	V	36 h	36 h	+	+	– 40 %	– 55 %	4 Tg.	4 Tg.	0	(+)

war bei den Tieren, die 0.3 g/kg und höhere Gaben erhalten hatten, ausnahmslos vermindert (++). Dieser Befund spricht dafür, daß in diesen Fällen der von Lipschitz beschriebene Mechanismus der Entzündungshemmung zur Wirkung gekommen ist. Für diese Annahme spricht wohl auch die Tatsache, daß wir in dieser Versuchsreihe in 2 Fällen (nach 0,35 und 0,4 g/kg) eine absolute Hemmung der Entzündungsreaktion beobachteten.

Nach Ebbecke[23] unterscheiden wir von der reflektorischen, durch Nervenausschaltung unterdrückbaren eine sekundäre Hyperämie, die lokal durch Stoffwechselprodukte im Gewebe hervorgerufen wird. Nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen darf angenommen werden, daß die geringe hyperämische Reaktion, die wir in Versuchen sahen, in denen es zu keiner stärkeren Verminderung der Lungenventilation, also zu keiner erheblichen Verschiebung des Säure-Basengleichgewichts kam, durch die lokale Wirkung sekundärer Stoffwechselprodukte im Sinne Ebbeckes zustande kommt. Die Ausbildung einer Verschiebung des Blut- und Gewebschemismus nach stärkerer Atemhemmung vermag anscheinend auch die Ausbildung dieser sekundären Hyperämie zu verhindern, so daß es nach Narkoticumgaben, nach denen neben einer völligen Analgesie eine stärkere Verminderung der Lungenventilation besteht, zu einer absoluten Entzündungshemmung kommen kann.

Die starke Verminderung des Atemvolumens nach hohen Dosen Veronal-Na wurde bereits früher von Gröber[24] beobachtet. Die in unseren Versuchen auftretende atmungssteigernde Wirkung subnarkotischer Gaben von Veronal-Na steht in Einklang mit Angaben Kochmanns[25]. Scheinbar genügt diese Atmungssteigerung nicht, um zu einer Verstärkung der phlogistischen Wirkung zu führen, wie sie von Guggenheim[15] nach künstlich forcierter Atmung und medikamentös bedingter Polycapnie beobachtet wurde.

[23] Ebbecke, U.: Pflügers Arch. **169**, 1 (1917); Münch. med. Wschr. **1921**, S. 624; Verh. Dtsch. path. Ges. **19**, 99 (1923). — [24] Gröber, A.: Biochem. Z. **31**, 1 (1911). — [25] Kochmann, M.: Heffters Hdb. **1**, 443 (1923).

Die Beobachtung Guggenheims, daß durch Cardiazol die Entzündungsreaktion gesteigert wird, konnte von uns in eigenen Versuchen bestätigt werden. Während die hyperämische Reaktion auf eine 10 Minuten andauernde Senfölapplikation durch die subcutane Zufuhr von 25 und 50% der Krampfdosis von Cardiazol (35 mg/kg) nur undeutlich gesteigert wird, sahen wir nach 35 mg/kg bei 2 von 3 Tieren eine weit über der Norm liegende Reaktion auftreten.

Bekanntlich kommt es bereits nach der subcutanen Gabe von wenigen Milligramm Cardiazol zu einer deutlichen Atmungsanregung[26]. Wir sahen in unseren Versuchen nach 9 mg/kg eine Steigerung um 10%. Eine verstärkte Atmung muß nach Lipschitz zu einer Veränderung des Säure-Basengleichgewichts führen, die der nach Narkoticawirkung beobachteten entgegengesetzt ist und die geeignet ist, eine Verstärkung der Entzündungswirkung hervorzurufen. Bei Prüfung der Reaktion der Tiere 8 Stunden nach dem Cardiazolversuch sahen wir jedoch keine gesteigerte Reaktion auf den Senfölreiz (10 Minuten) eintreten. Eine restlose Erklärung der entzündungssteigernden Wirkung des Cardiazols im Sinne der Lipschitzschen Theorie dürfte danach noch nicht zu geben sein.

Interessanterweise gelingt es, die durch Veronal-Na hervorgerufene Entzündungshemmung durch Cardiazol antagonistisch zu beeinflussen. Hierbei entsprach der Grad der in den einzelnen Versuchen beobachteten hyperämischen Reaktion ungefähr dem Ausmaß der durch die Cardiazolzufuhr bedingten antagonistischen Beeinflussung der Narkose.

Wir gingen bei diesen Versuchen folgendermaßen vor: Das Versuchstier erhielt in allen Fällen 0,33 g/kg Veronal-Na subcutan (SLD.). Nach Eintritt der SL. wurde das Senföl für 10 Minuten aufgebracht und gleichzeitig subcutan Cardiazol injiziert. Die antagonistische Beeinflussung der Narkose trat noch während der direkten Einwirkung des Senföls ein.

Die Versuche ergaben nach der Zufuhr von 25 mg/kg Cardiazol in 10%iger Lösung am narkotisierten Tier noch eine deutliche Entzündungshemmung [−(−)]. Nach 50 mg/kg Cardiazol sahen wir noch eine geringe Verminderung der hyperämischen Reaktion, nach 65 mg/kg aber eine deutliche Steigerung. In den Versuchen mit 50 und 65 mg/kg beobachteten wir eine Atmungserregung von −40 auf +25% bzw. −35 auf +30% für die Dauer von 15 bzw. 30 Minuten; außerdem traten Krämpfe auf.

Die Steigerung der Entzündungswirkung ist beträchtlich, wenn wir uns vergegenwärtigen, daß wir nach der SLD. von Veronal-Na eine ganz auffällige Verminderung der hyperämischen Reaktion und in einem Versuch überhaupt keine entzündlichen Veränderungen sahen. Die Prüfung der Reaktion der Tiere 8 Stunden nach dem antagonistischen Versuch ergab bei 2 Kaninchen eine gering verminderte hyperämische Reaktion, während die der übrigen Tiere der Norm entsprach.

[26] Hildebrandt, F.: Heffters Hdb. **E 5**, 168 (1937).

Es ist in diesem Zusammenhang zu erwähnen, daß wir untersucht haben, wie lang nach der Zufuhr von Cardiazol noch eine entzündungssteigernde Wirkung nachweisbar ist. Wir gaben in dieser Versuchsreihe Kaninchen subcutan die Krampfdosis Cardiazol (35 mg/kg) und stellten die Entzündungsreaktion zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Injektion fest. Die Versuche ergaben, daß eine deutliche Entzündungssteigerung vorhanden, so lange die zentral erregende Wirkung des Cardiazols objektiv nachweisbar ist. Sie war besonders in dem Stadium ausgeprägt, in dem das Tier mit Krämpfen reagierte. 60 Minuten nach der Injektion, in einem Stadium, in dem wir im allgemeinen nur noch eine gesteigerte Atmung, Muskelzittern und Übererregbarkeit des Tieres beobachteten, sahen wir noch eine gering verstärkte Reaktion, nach dem Abklingen der Erregungssymptome (3 Stunden) war die hyperämische Reaktion in 3 Parallelversuchen ausnahmslos etwas geringer als normal.

Eine Beeinflussung der Entzündung im Sinne Lipschitz liegt hier also sicher nicht vor. Die Steigerung der Atmung nach der Krampfdosis von Cardiazol ist so excessiv, daß eine daraus resultierende Veränderung des Blut- und Gewebschemismus nach den Winklerschen Befunden 3 Stunden nach der Zufuhr des Analepticum noch nachweisbar sein müßte. Diese Forderung gilt insbesondere auch für die antagonistischen Versuche, in denen die atmungserregende Wirkung bekanntlich besonders ausgeprägt ist, da die am Normaltier nach Hyperventilation einsetzenden Gegenregulationen nicht so stark zur Wirkung gelangen.

Die Tatsache, daß auch in den Versuchen mit Cardiazol die Entzündungsbeeinflussung parallel geht mit der zentral erregenden Wirkung, spricht dafür, daß wir zur Erklärung des Wirkungsmechanismus auch hier zentral-nervöse Regulationsmechanismen in Anspruch nehmen müssen.

5. Besprechung der Ergebnisse.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß zur Ausbildung einer hemmenden Wirkung gegenüber der Senfölentzündung nicht unbedingt eine Verminderung der Lungenventilation notwendig ist, wie sie nach der Lipschitzschen „Säuretheorie" gefordert wird. Wir sahen in unseren Versuchsreihen eine deutliche Verminderung der hyperämischen Reaktion nach Narkoticumdosen, die keine Verminderung des Atemvolumens hervorriefen. Eine Veränderung des Blut- bzw. Gewebsmechanismus darf nach unseren Kenntnissen über die Narkoticawirkung verneint werden, so lange die Atmung unbeeinflußt bleibt (Kochmann[23, 27]). Es ist nun auffällig, daß in unseren Versuchen das Auftreten der antiphlogistischen Wirkung parallel mit dem Erreichen eines gewissen Grades der Narkose geht. Die Entzündungshemmung war dann voll ausgeprägt, wenn das Stadium der „Operationsreife" erreicht war, wenn also vollkommene Analgesie vorhanden

[27] Kochmann, M.: Heffters Hdb. **E 2**, (1936).

war. Diese Befunde sprechen dafür, daß der Mechanismus der Entzündungshemmung zweifellos ein komplexer ist und daß die zentral-depressive Wirkung der Narkotica als beeinflussendes Moment in Betracht zu ziehen ist.

Hirschhorn und Mulinos[28] sahen in Versuchen am Kaninchenauge keine Hemmung der Senfölchemosis nach der Zufuhr von Urethan, Pernocton, Amytal, Pentobarbital, Äther und Chloralhydrat eintreten. Die Gaben, in denen diese Narkotica verwendet wurden, werden hierbei nicht exakt angegeben. Für die Versuche mit Urethan und Chloralhydrat verwendeten diese Autoren eine von Tainter und Hanzlik[29] benutzte Dosis von 0,5 g/kg (Urethan rectal) und 0,6 g/kg (Chloralhydrat per os). Derartige Dosen führen nach unseren Erfahrungen zu keiner völligen Analgesie. Wenn wir annehmen, daß auch die anderen von diesen Autoren verwendeten Narkotica in analogen Dosierungen verwendet wurden, so bestätigen diese Versuchsergebnisse den Befund, daß Narkoticagaben, die zu ungenügender Analgesie führen, keine oder nur geringe antiphlogistische Wirkung entfalten.

Unsere Versuchsergebnisse rücken erneut den Einfluß zentral-nervöser Einwirkungen auf den Ablauf der Entzündung in den Vordergrund der Betrachtung. Für die Annahme eines neurogenen Einflusses auf die Entzündungen sprechen bekanntlich eine große Reihe klinischer Beobachtungen, von denen wir lediglich zwei besonders instruktive Fälle erwähnen wollen, über die Spiess[2] und Gaisböck[30] berichteten. (In diesem Zusammenhang sei auf die zusammenfassenden Darstellungen von Askanazy[31] und Starkenstein[10] verwiesen.) In beiden Fällen blieben nach zentraler Ausschaltung der Sensibilität einer Körperseite Entzündungserscheinungen streng einseitig aus bzw. wurden hemilateral zurückgebildet. Derartig einseitig lokalisierte antiphlogistische Wirkungen können nicht mit Veränderungen des Blut- bzw. Gewebschemismus erklärt werden, sie deuten vielmehr auf eine neurogene Wirkungskomponente hin.

Lubarsch[32] hat auf Grund von Untersuchungen, die unter seiner Leitung über die nervöse Beeinflussung der Entzündung durchgeführt wurden, die Rolle des Zentralnervensystems als eine den Entzündungsprozeß regelnde bezeichnet. Es dürfte für die Erklärung einer derartigen neurogenen Entzündungssteuerung gleichgültig sein, ob für sie die sensiblen Nervenbahnen oder funktionell selbständige Nerven in Anspruch genommen werden, deren Annahme neuerdings wieder von Amsler und Weger[33] auf Grund der Ergebnisse von Untersuchungen über die Wirkung des Atophans auf die sensiblen Nervenendigungen in Erwägung gezogen wurde („Entzündungsnerven").

[28] Hirschhorn, L., u. Mulinos: Arch. internat. Pharmacodynam. **52**, 164 (1935). — [29] Tainter, M., u. P. Hanzlik: J. pharmacol. **24**, 179 (1925). — [30] Gaisböck, A.: D. Arch. klin. Med. **121**, 339 (1917). — [31] Askanazy, M.: Hdb. d. norm. u. path. Physiol. **13**, 279 (1929). — [32] Lubarsch, zit. n. Askanazy, M.: Ebenda **13**, 303 (1929). — [33] Weger, P., u. C. Amsler: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 259 (1937).

Dieser neurogene Regulationsmechanismus vermag, wie unsere Versuche gezeigt haben, die Wirkung eines dosierten Senfölreizes weitgehend zu beeinflussen.

Es muß in diesem Zusammenhang erwähnt werden, daß wir die bereits von Shimura[13] nach Narkoticumzufuhr beobachtete zeitliche Verzögerung des Eintritts der Entzündung auch in unseren Versuchen sahen. Die von diesem Autor beobachtete Verlängerung und Verstärkung der Entzündungswirkung im weiteren Verlauf des durch Narkotica beeinflußten Vorganges trat in unseren Versuchen nicht in Erscheinung.

Die Wirkung des Cardiazols auf den zeitlichen Eintritt der Entzündung ist auch hier der Narkoticumwirkung entgegengesetzt. Das erste Auftreten der hyperämischen Reaktion nach der Zufuhr von Cardiazol (Krampfdosis) erfolgte im antagonistischen Versuch mit Veronal-Na bedeutend früher als im Versuch mit Narkoticum allein. Dieser Befund spricht zusammen mit den übrigen in unseren Cardiazolversuchen gemachten Beobachtungen dafür, daß die zentral erregende Wirkung des Cardiazols den nervösen Regulationsmechanismus der Entzündung beeinflußt und durch direkte antagonistische Beeinflussung die antiphlogistische Wirkung der Narkotica aufzuheben vermag.

Wieweit für diese Wirkung des Cardiazols eine Beeinflussung des Kreislaufs, des Gewebsstoffwechsels, Veränderungen der sensiblen Reizschwelle u. a. verantwortlich zu machen sind, kann vorläufig noch nicht entschieden werden.

Dem von Lipschitz beschriebenen Mechanismus der Entzündungshemmung kommt sicher nur in den Fällen eine Bedeutung zu, in denen es zu einer stärkeren Beeinflussung des Atemvolumens kommt. Für diese Annahme sprechen insbesondere unsere Versuche mit Veronal-Na. Wenn wir als Kriterium des Eintritts einer durch Veränderung der Lungenventilation hervorgerufenen antiphlogistischen Wirkung die Tatsache ansehen wollen, daß eine derartige Wirkung auch noch längere Zeit nach der Narkoticumwirkung nachweisbar sein muß (Winkler[16]), dann wäre aus unseren Versuchen zu folgern, daß der Lipschitzsche Mechanismus der Entzündungshemmung nur in unseren Versuchen mit Veronal-Na und in einigen Urethanversuchen eine Rolle spielte.

Diese atmungsverändernde Wirkung spielt aber sicher keine Rolle für die Ausbildung der entzündungsfördernden Wirkung des Cardiazols, dessen erregende Wirkung auf das Atmungszentrum zwangsläufig zu einer Veränderung des Blut- und Gewebschemismus führen muß, die der nach Narkoticumwirkung beobachteten entgegengesetzt ist. Wir haben in keinem Falle eine gesteigerte Entzündungswirkung nach der Applikation von Senföl beobachtet, wenn die Cardiazolwirkung bereits abgeklungen war. Die entzündungssteigernde Wirkung war in diesen Versuchen zeitlich streng an die objektiv feststellbare Cardiazolwirkung gebunden.

Die Tatsache, daß in unseren Versuchen mit Veronal-Na die antiphlogistische Wirkung fast sprungartig anstieg, wenn zu der Verminderung der Lungenventilation die Ausbildung einer kompletten Analgesie tritt, spricht dafür, daß hier der von Lipschitz beschriebene Mechanismus durch die zentraldepressive Wirkung verstärkt wird. Es treten also in solchen Fällen zwei antiphlogistisch wirkende Komponenten in Tätigkeit, und es ist denkbar, daß sich die verschiedenen Narkotica in Gruppen einteilen lassen, in denen der eine der beiden entzündungshemmenden Faktoren besonders im Vordergrund der Wirkung steht. Es würde dann die antiphlogistische Wirkung des Novonals[15] und Bromurals[34] nach den Untersuchungen Lipschitz und Schüler bei Dosierungen, die nicht zu voller Analgesie führen, im wesentlichen durch die Verminderung des Atemvolumens, die der von uns untersuchten Basisnarkotica durch die zentraldepressive Wirkung hervorgerufen, während bei Narkotica vom Typ des Urethans und Veronal-Na beide Faktoren für die antiphlogistische Wirkung verantwortlich zu machen wären. (Bei Narkotica vom Typ des Bromurals wird bei höheren Gaben wahrscheinlich auch die zentral-depressive Wirkung mit in ursächlichen Zusammenhang mit der entzündungshemmenden Wirkung zu bringen sein.)

Bei Narkosen mit extrem hohen Dosierungen des Narkoticum muß daran gedacht werden, daß die antiphlogistische Wirkung durch andere Mechanismen verstärkt werden kann. So wird beispielsweise die Körpertemperatur durch hohe Veronal-Na-Gaben ganz erheblich gesenkt (in unseren Versuchen um — 5°). In diesem Falle muß eine Entzündungshemmung durch Beeinflussung der Temperatur im Sinne von Fürst[9] in Erwägung gezogen werden.

Weiterhin müssen wir an eine periphere Zellwirkung denken, die nach unseren Erfahrungen ebenfalls als beeinflussendes Moment in Frage kommen dürfte. Wir haben in Versuchen, über die noch ausführlich berichtet werden soll, mit einer elektrischen Methode der Permeabilitätsmessung nachweisen können, daß es unter der Einwirkung von Narkotica in narkotischen Konzentrationen zu einer reversiblen Verminderung der Permeabilität der Zellgrenzflächen kommt[35]. Diese Befunde bestätigten zunächst nur die Ergebnisse zahlreicher Untersuchungen, die mit anderen Methoden durchgeführt wurden. Sie erhielten aber ein besonderes Interesse durch den Befund, daß unter der Wirkung mittlerer Konzentrationen von Cardiazol und anderen Analeptica eine reversible Steigerung der Permeabilität der Zellgrenzflächen nachweisbar ist, und das weiterhin die durch Narkoticawirkung hervorgerufene Verminderung der Permeabilität durch Cardiazol antagonistisch beeinflußt werden kann[35]. Es ist denkbar, daß eine direkte periphere Beeinflussung der Permeabilität der Zellgrenzflächen durch Narkotica (im Sinne einer reversiblen Verminderung) (der

[34] Lipschitz, W.: Schweiz. med. Wschr. **1935**, S. 425. — [35] Hofmann, H.: Kongr. Ber. d. 16. Int. Physiol.-Kongr. Zürich 1938, **3**, 34 (1938).

Entzündungsentwicklung, die bekanntlich durch eine Permeabilitätssteigerung charakterisiert wird, entgegengewirkt wird, durch Cardiazol im Sinne einer Permeabilitätssteigerung die Ausbildung der Entzündung symbat beeinflußt wird.

Zusammenfassung.

1. Die Ausbildung der Senfölentzündung an der Rückenhaut des Kaninchens wird durch Basisnarkotica (Rectidon, Evipan-Na, Eunarcon) gehemmt, wenn das Narkoticum in Gaben zugeführt wird, in denen es zu voller Analgesie kommt. Das Auftreten dieser antiphlogistischen Wirkung ist unabhängig von einer Beeinflussung der Lungenventilation.

2. Die entzündungshemmende Wirkung der Narkotica ist besonders ausgeprägt, wenn neben Analgesie eine Verminderung des Atemvolumens vorhanden ist.

3. Die subcutane Zufuhr von Cardiazol (Krampfdosis) ruft eine entzündungssteigernde Wirkung hervor.

4. Die durch Veronal-Na hervorgerufene antiphlogistische Wirkung wird durch Cardiazol antagonistisch beeinflußt.

Aus dem Balneologischen Institut der Hansischen Universität Hamburg in Bad Oeynhausen.

Erwiderung auf Gremels' Arbeit: „Über die Beziehungen des Kohlehydratstoffwechsels zur Physiologie und Pharmakologie der Herzenergetik“[1].

Von

Kl. Gollwitzer-Meier.

(Eingegangen am 3. Juni 1940.)

Es klingt zunächst wie ein Selbstvorwurf gegen seine eigenen Herzgaswechselmessungen, wenn Gremels feststellt, daß „der Wert von Beobachtungen, die sich allein auf die externe Methode stützen, einer erheblichen Einschränkung unterliegen“ (S. 632) müsse. Die externe Methode der Herzgaswechselmessung ist diejenige Methode, die Gremels ausschließlich benutzt. Seit den Untersuchungen von Evans und Starling (1913) (17) hat es sich eingebürgert, als externe Methode diejenige Methode der Herzgaswechselmessung zu bezeichnen, die den Sauerstoffverbrauch des Herzens spirometrisch aus der Lungenluft bestimmt, als interne Methode diejenige Methode, die den Sauerstoffverbrauch des Herzens aus der Sauerstoffdifferenz von arteriellem und venösem Coronarblut und aus dem Coronarvolumen mißt. Gremels aber meint, wenn er „externe“ Methode schreibt, die interne Methode und umgekehrt. Er führt die Verwechslung so konsequent durch, daß er sogar in einem von ihm wörtlich zitierten Satz aus einer unserer Arbeiten ohne weiteres extern in „intern“ übersetzt (S. 659). Wir haben also zur Kenntnis zu nehmen, daß Gremels als „externe“ Methode doch nicht die von ihm verwendete, sondern die interne Methode angreift.

Es ist nicht ohne Humor zu lesen, daß Gremels seine Einwendungen gegen die interne Methode gerade gegen uns vorträgt. Wir haben nämlich unsere Herzgaswechselbefunde in den meisten wesentlichen Befunden mit doppelter Methodik, mit gleichzeitiger * externer und interner Messung gesichert, d. h. die interne Methode durch die externe Methode bestätigt. Damit befindet sich Gremels in der seltsamen Lage, sowohl unsere vergleichenden externen Befunde als auch die mit uns übereinstimmenden externen Befunde anderer Untersucher abzulehnen, nur weil wir gleichlautende Befunde mit der internen Methode erhoben haben. Nun gibt es

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 629 (1940).

* Methodik unserer strengst gleichzeitigen Messung eingehend veröffentlicht und abgebildet in Pflügers Arch. **240**, 91, 1938, sowie in Evans' Recent Adrances in Physiology, 6. Aufl., 1939, S. 161 u. 164.

allerdings in unseren früheren Arbeiten einige Versuchsreihen, die wir nur mit der internen Methode durchgeführt haben. Aber wie liegen die Dinge hier? Unsere Befunde stimmen mit denen Gremels' in fast allen wesentlichen Punkten überein. Zu der Frage, die den grundsätzlichen Unterschied zwischen der Spontaninsuffizienz und der Barbitursäureinsuffizienz des Herzens betrifft, hat Gremels früher (2) behauptet, es bestehe kein solcher grundsätzlicher Unterschied. Jetzt bestätigt er (S. 679), daß wir recht hatten, als wir „die Energetik der verschiedenen Formen der experimentellen Herzinsuffizienz als nicht einheitlich" (3) bezeichneten. Ist es schon unerklärlich, warum Gremels mit Stillschweigen darüber hinweggeht, daß unsere interne Methode zu richtigen, durch die externe Methode bestätigten Ergebnissen führt, so ist es noch unerklärlicher, warum Gremels den Eindruck zu erwecken versucht, unsere interne Methode habe in einer anderen Versuchsreihe zu einem der externen Methode entgegengesetzten Ergebnis geführt. Wir haben in zwei Arbeiten (3, 4) den erhöhten Sauerstoffverbrauch des spontaninsuffizienten Herzens beschrieben. Wie kommt Gremels dazu, uns ein entgegengesetztes Ergebnis zu unterschieben? Er tut dies auf S. 631. Dort gibt er eine „Tabelle 2 (Arbeit Moe und Visscher)" wieder. Mit keinem einzigen Wort erwähnt er, daß er in dieser als Wiedergabe des Originals aufgemachten Tabelle die Stäbe 11—14 selbst hinzugefügt hat, in denen er uns im 11. Stab als von Moe und Visscher (5) angegriffen hinstellt. Moe und Visscher haben diesen Angriff schon deshalb nicht gegen uns geführt, weil Visscher (6, S. 268) uns durchaus zu Recht unter den Untersuchern anführt, die, wie er selbst und wie Starling und Visscher (7), Gremels (8), Peters und Visscher (9), Kiese und Garan (10), bei der spontanen Herzinsuffizienz den Sauerstoffverbrauch des Herzens erhöht finden.

Nun erheben allerdings Moe und Visscher grundsätzliche Einwände gegen die Methoden, die den Herzgaswechsel aus Gasgehalt und Volumen des Coronarsinusblutes berechnen. Leider sind aber die eingehenden Untersuchungen von Moe und Visscher doch wohl nicht geeignet, das letzte Wort über Verteilung und Zusammensetzung von Coronarsinusblut und thebesischem Blut zu sprechen. Denn bei ihrem Herzpräparat nach Daly und Thorpe (11) schlägt das rechte Herz leer und sein niedriger Füllungsdruck schafft nach Johnson und Wiggers (12) besondere Bedingungen für die Verteilung des venösen Coronarblutes auf Sinusgefäße und thebesische Gefäße, Bedingungen, die keinesfalls verglichen werden können mit denen bei normal belastetem rechten Herzen. Dazu kommt, daß das Herz von Daly und Thorpe mit dem Einfluß von Vasotoninen zu rechnen hat, die in jedem lungenlosen künstlichen Kreislauf sich anhäufen. Daly und Thorpe (11) sind sich selbst klar, daß sie diesen Übelstand nicht völlig überwunden haben. Moe und Visscher bilden (Abb. 5 der Originalarbeit) bei der spontanen Herzinsuffizienz eine hochgradige Abnahme des Ausflusses aus dem Coronarsinus ab, die in vollem Gegensatz

steht zu dessen Zunahme am lungenhaltigen Starlingschen Präparat und durch die Vasotoninwirkung an den Coronarvenen erklärbar ist. Da die thebesischen kurzen Gefäßstrecken mit ihrem abweichenden Bau durch die Vasotonine anscheinend kaum verengt werden, verschiebt sich bei Moe und Visscher das Coronarblut in die thebesischen Venen. Es ist Gremels entgangen, daß Moe und Visscher später selbst (13), entgegen diesen ersten Feststellungen und in voller Übereinstimmung mit den klassischen Befunden Anreps und seiner Mitarbeiter (14), deren Wert sie selbst hervorheben, die Blutverteilung auf Coronarsinus und thebesische Gefäße als konstant bezeichnen, solange nicht ungewöhnlich niedrige (unter 40 mm Hg) Druckunterschiede zwischen Aorta und Art. pulmonalis auftreten. Auch was den Sauerstoffgehalt des Sinusblutes und des thebesischen Blutes betrifft, nehmen Moe und Visscher in dieser zweiten (13) Arbeit ihre ersten (5) Befunde insofern zurück, als sie zeigen, daß die Sauerstoffutilisation in beiden Blutwegen erst dann entgegengesetzte Bewegungen aufweist, wenn die Konstanz der Verteilung auf beide Blutwege aufgehoben ist, ein Ereignis, das sich nach Anrep und Mitarbeitern auf besondere und leicht erkennbare Bedingungen beschränkt. Leider unterlassen es Moe und Visscher, diese Erkenntnis für eine richtige Beurteilung der internen Methode heranzuziehen, die von der Übereinstimmung interner und externer Messung ausgehen wird.

Gremels greift unsere Ergebnisse aber auch dort an, wo sie von der Methodenfrage der Herzgaswechselmessung unabhängig sind. So bringt er vor, eine Steigerung des Herzminutenvolumens unter Adrenalin beweise in unseren Versuchen, daß „diese Herzen allesamt schon dynamisch insuffizient waren" (S. 657), weshalb „Gollwitzer-Meier sich lieber um Verbesserungen der eigenen präparativen Methodik bemühen sollte" (S. 657). Dabei war Gremels selbst in einer früheren Arbeit (15) der alte Befund von Patterson und Starling noch bekannt, daß auch am vollsuffizienten Herzen des Starling-Präparats Adrenalin vorübergehend das Herzminutenvolumen steigert, eine Folge des veränderten Zuckungsvorgangs. Nicht weniger ungenau ist Gremels, wenn er über unsere Versuche zur Vaguswirkung auf den Herzgaswechsel (16) unrichtig behauptet (S. 658), trotz einer Aortendrucksenkung um 20 mm Hg sei unter der (konstriktorischen) Vagusreizung eine Zunahme des Coronarvolumens zu verzeichnen, während in Wirklichkeit in der Kurve (Abb. 3) die gleichzeitig abgebildeten Bewegungen des Aortendruckes und des Coronarvolumens beide eine deutliche Senkung zeigen und in der Tabelle 2 der gleichen Arbeit bei 6 Vagusreizungen das Coronarvolumen 5mal um 7—32 % abnimmt, einmal bei einer sehr schwachen Reizung aber um 4 % zunimmt. Jedenfalls genügt die letztere Ausnahme, um Gremels zu weiteren unrichtigen Vermutungen über die verwendete Reizstärke und zuletzt zu der Feststellung zu führen, unsere „Sauerstoffwerte könnten keinen Anspruch machen, als Wirkungen einer Vagusreizung zu gelten"

(S. 659). Und welche Spiegelfechtereien macht Gremels um das spontane Lungenödem des Herzlungenpräparats, über das es uns, entgegen Gremels (S. 657), nie eingefallen ist, zu behaupten, es trete mit allgemeiner Gesetzmäßigkeit nach 2 Stunden auf? Wir bedienen uns, wie alle Untersucher außer Gremels, des klassischen Herzlungenpräparats und nicht des „humoral benervten" Präparats von Gremels, weil wir es wie die anderen für bedenklich halten, den Herzgaswechsel durch willkürliche Adrenalin- und Azetylcholinzusätze zum ernährenden Blut unvoraussehbar und von vornherein zu stören. Im Gegensatz zu Gremels' Präparat und zu dem (zuletzt fast ausschließlich von uns benutzten) normal innervierten Herzlungenpräparat ist es aber vom unbenervten klassischen Herzlungenpräparat seit Evans und Starling (17) und seit Magnus (18) bekannt, daß es in das spontane Lungenödem gelangen kann. Wenn wir nun dies erwähnen und berücksichtigen, so ist das für Gremels — allein uns gegenüber — ein Anlaß zu der völlig unberechtigten Belehrung, das spontane Lungenödem sei „ein Zeichen für ein schlechtes Präparat" (S. 657) und die „Herzlungenpräparate von Gollwitzer-Meier seien nicht besonders gut" (S. 657). Wir ersparen uns weitere Beispiele Gremelsscher literarischer Methoden, die sachliche Gegensätze aufzustellen scheinen, wo sie tatsächlich nicht bestehen.

Literatur.

1) Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 629 (1940). — 2) Gremels, H.: vgl. ebenda **194**, 679 (1940). — 3) Gollwitzer-Meier, Kl. u. E. Krüger: Pflügers Arch. **238**, 251 (1936). — 4) Gollwitzer-Meier, Kl., K. Kramer u. E. Krüger: Ebenda **237**, 68 (1936). — 5) Moe, G. K., u. M. B. Visscher: Amer. J. Physiol. **125**, 461 (1939). — 6) Visscher, M. B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 266 (1938). — 7) Starling, E. H., u. M. B. Visscher: J. Physiol. (Brit.) **62**, 243 (1926/27). — 8) Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 1 (1936). — 9) Peters, H. C., u. M. B. Visscher: Amer. Heart J. **11**, 273 (1936). — 10) Kiese, M., u. R. S. Garan: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 226 (1938). — 11) Daly, I. de B., u. W. V. Thorpe: J. Physiol. (Brit.) **79**, 199 (1933). — 12) Johnson, J. R., u. C. J. Wiggers: Amer. J. Physiol. **118**, 38 (1934). — 13) Moe, G. K., u. M. B. Visscher: Ebenda, Phys. Soc. P. 588. — 14) Anrep, G. V., A. Blalock u. M. Hammouda: J. Physiol. (Brit.) **66**, 87 (1928). — 15) Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 13 (1936). — 16) Gollwitzer-Meier, Kl., u. E. Krüger: Pflügers Arch. **240**, 89 (1938). — 17) Evans, C. L. u. E. H. Starling: J. Physiol. (Brit.) **46**, 413 (1913). — 18) Magnus, R.: Lane Lectures on exper. Pharm. and Med., Stanford University Press 1930, S. 63.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Erwiderung auf die vorstehenden Bemerkungen von Gollwitzer-Meier.

Von

Hans Gremels.

(Eingegangen am 2. August 1940.)

Prinzipiell ergibt sich für jeden urteilsfähigen Leser meiner Arbeiten und einem Vergleich der von Frau Gollwitzer-Meier aufgefundenen Beobachtungen ohne weiteres, daß die vorstehenden Einwände im wesentlichen diesen Namen nicht verdienen. Frau Gollwitzer-Meier hat in „humorvoller" Weise eine angebliche Begriffsverwechslung meinerseits zum Ausgangspunkt ihrer Bemerkungen gemacht und hat sogar gemerkt, daß ich dabei so konsequent war, im Falle eines zitierten Satzes einer ihrer Arbeiten „extern" in „intern" zu übersetzen. Dazu ist zu sagen, daß ich die von Evans und Starling angenommene Bezeichnung an sich nicht für glücklich halte, da sie dem Wesen der Sache nicht ganz gerecht wird. Ich habe diese Bezeichnungen daher umgekehrt und dahingehend definiert, daß ich unter externer Methode die arterio-venöse Sauerstoffdifferenzbestimmung im Coronarblut und unter interner Methode die respiratorische Sauerstoffverbrauchsmessung verstehe, weil die Ableitung des Coronarsinusbluts nach außen besser mit dem Synonym „extern" charakterisiert wird. Außerdem habe ich zumeist die Begriffe „extern" mit der arterio-venösen Sauerstoffdifferenzbestimmung und „intern" mit der respiratorischen Sauerstoffverbrauchsbestimmung zusammen gebraucht, so daß nach den Gesetzen der Logik ein Irrtum ausgeschlossen wurde.

Meine Einwände gegen die abweichende Feststellung bzw. gegen die Verwertbarkeit der von Frau Gollwitzer-Meier und Mitarbeitern gefundenen Sauerstoffverbrauchswerte habe ich an Hand von Zahlen aus den betreffenden Arbeiten dargebracht, die absolut eindeutig sind. Auf diese zahlenmäßigen Feststellungen hat Frau Gollwitzer-Meier nichts zu erwidern.

Ihre Behauptung, daß die wesentlichsten Feststellungen in ihren Arbeiten mit doppelter Methodik getroffen seien, geht jedenfalls aus den meisten mir vorliegenden Arbeiten nicht hervor, z. B. finde ich in der Arbeit „Einfluß der Herznerven auf den Gaswechsel des Warmblüterherzens" [Pflügers Arch. **240**, 89 (1938)] eine einzige Tabelle (Tabelle 1), in der lediglich Sauerstoffzahlen auf interne und externe Methode nebeneinander gestellt sind und in einer dritten Spalte die Bezeichnung Sympathicusreizung, Vagusreizung aufgeführt ist. Die Versuche, die ich unter Angabe

der Abbildungen und Tabellen zitiert habe, sind lediglich mit der arterio-venösen Sauerstoffdifferenzbestimmungsmethode gewonnen worden. Eine gleichzeitige Bestimmung des respiratorischen Sauerstoffverbrauchs und durch die arterio-venöse Differenzmethode, wie sie Gollwitzer-Meier für ihre neuesten Beobachtungen in Anspruch nimmt, ist schon aus rein methodischen Gründen eine Unmöglichkeit. Auf einer solchen Basis also versucht Frau Gollwitzer-Meier die Beweiskraft ihrer Feststellungen zu erhärten.

Wenn ich die Adrenalinversuche von Frau Gollwitzer-Meier angeführt habe, so geschah das, um zu zeigen, daß diese Herzen insuffizient waren, und im Zusammenhang mit der Erörterung der zu niedrigen Sauerstoffwerte durch die Anführung einer ähnlichen Adrenalinwirkung in der Arbeit von Starling und Patterson wird die von mir gemachte Feststellung durch die Herzvolumenkurve sogar noch erhärtet, aber nicht widerlegt.

Die Erklärung von Frau Gollwitzer-Meier in diesem Zusammenhange, daß in einem System wie im Herz-Lungenpräparat die Vermehrung des Minutenvolumens unter Adrenalin durch eine Veränderung des Zuckungsvorganges zustande kommt, eröffnet neue physikalische Perspektiven der hydrostatischen Grundlagen des Blutausflusses aus dem Venenreservoir.

Wenn ich eine Tabelle aus der Arbeit von Moe und Visscher unter Benutzung der von Frau Gollwitzer-Meier angewandten rechnerischen Methode und unter Zugrundelegung der in der Tabelle angegebenen Zahlen erweitert habe, so ist das keine Unterschiebung eines entgegengesetzten Ergebnisses, denn tatsächlich finden sich in einer Arbeit von Frau Gollwitzer-Meier [Pflügers Arch. **237**, 68 (1936)] Zahlen, wo mit zunehmender Arbeitsleistung der Sauerstoffverbrauch abnimmt oder konstant bleibt.

Dies mag genügen, um das Gewicht dieser Einwände zu charakterisieren. Als Krönung des Ganzen besitzt die Schlußbemerkung von Frau Gollwitzer-Meier für den Kundigen psychologische Beweiskraft für die Richtigkeit meiner Kritik.

Ich habe bislang versucht, aus den Arbeiten von Frau Gollwitzer-Meier und Mitarbeitern die an „klassischen" Herz-Lungenpräparaten festgestellten Ergebnisse, welche qualitativ brauchbar erschienen, zu erwähnen und die offensichtlich falschen Werte als solche abzulehnen. Diese Bemühungen sind, wie aus dem Vorstehenden zu ersehen ist, vergeblich gewesen. Aus diesem Grunde werde ich mich daher in Zukunft nicht mehr zu bemühen brauchen.

Die Diskussion ist hiermit geschlossen.

Die Redaktion: Straub.

Aus dem Physiologischen Institut der „University of Minnesota", Minneapolis (Minn.) USA. (Direktor: M. B. Visscher.)

Sauerstoffverbrauch und Wirkungsgrad des insuffizienten Herzens.

(Erwiderung auf die Arbeit von A. Rühl.)

Von

M. B. Visscher.

(Eingegangen am 5. Februar 1940.)

Rühls (1939) Erwiderung auf meine Kritik (Visscher 1938) seiner Schlußfolgerungen bezüglich Sauerstoffverbrauch und Wirkungsgrad des insuffizienten Herzens enthält einige „erstaunliche" Feststellungen, die der Berichtigung bedürfen.

1. Es ist unrichtig, daß wir die Koronardurchblutung bei der Bestimmung der vom Herzen geleisteten Arbeit nicht gemessen haben. Vgl. Starling und Visscher (1927) und Moe und Visscher (1939).

2. Es erscheint unmöglich, daß die „Überschußkohlensäure", die, wie ich ausgeführt habe, in Rühls Beobachtungen unerklärlich ist, durch die Annahme zu erklären ist, sie komme aus dem Blut. Rühl bestimmte A-V-Unterschiede zwischen arteriellem und venösem Koronarblut; was in dem Rest des Systems vor sich geht, ist bedeutungslos.

Wie Rühl zu einer derartigen Annahme kommen konnte, erscheint mir unverständlich.

3. Unrichtig ist auch die Bemerkung: „Es ist Visscher völlig entgangen, daß hierbei die CO_2-Bildung aus dem gleichen Blut im gleichen Analysengang unter Zugrundelegung der gleichen (nach Visscher angeblich ja unrichtigen) Koronardurchblutung, d. h. mit Hilfe der gleichen ‚internal method' bestimmt wurde wie der O_2-Verbrauch. Es kann also nur beides richtig oder beides falsch sein." Ich bin mir über Rühls Methode völlig im klaren. Es ist mehr als gewagt zu behaupten, daß beide Methoden – die CO_2- und O_2-Bestimmung – notwendigerweise beide gleich gut oder gleich schlecht sind. Es ist leicht möglich, daß wohl die eine nicht aber die andere Methode mit einem systematischen Fehler behaftet ist. Außerdem gibt es noch eine Reihe weiterer Möglichkeiten, die Diskrepanz zwischen Rühls CO_2- und O_2-Werten zu erklären, doch erscheint es unnötig, hier darauf näher einzugehen. Es mag nur noch bemerkt werden, daß Moe und ich (1939) gleichzeitige Messungen des Sauerstoffverbrauchs mit der „internal" und „external" Methode gemacht haben. Wir haben bei diesem Versuch die gesamte Koronardurchblutung gemessen,

nicht den ziemlich unbestimmten Anteil, der aus dem Koronarsinus kommt, wie es Rühl getan hat. Wir fanden Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Starling und Visscher (1927).

Ich betrachte die Diskussion mit Rühl — wenigstens von meiner Seite aus — als geschlossen, bis neue experimentelle Ergebnisse über diese Frage vorliegen.

Literatur.

Moe, G. K., and M. B. Visscher: Amer. J. Physiol. **125**, 461—473 (1939). — Rühl, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 109—116 (1939). — Starling, E. H., and M. B. Visscher: J. Physiol. (Brit.) **62**, 243—261 (1927). — Visscher, M. B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 266—274 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie Akt.-Ges., Werk Höchst, Frankfurt a. M.

Über eine neue Klasse von Verbindungen mit spasmolytischer und zentral analgetischer Wirksamkeit unter besonderer Berücksichtigung des 1-Methyl-4-phenyl-piperidin-4-carbonsäure-äthylesters (Dolantin).

Von

O. Schaumann.

Mit 10 Textabbildungen (30 Einzelbildern).

(Eingegangen am 23. Juni 1940.)

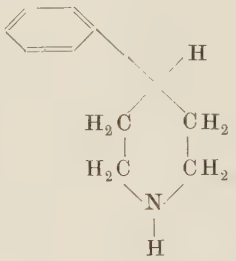
Über spasmolytisch wirksame synthetische Verbindungen, die sich modellmäßig vom Atropin einerseits und vom Papaverin andererseits ableiten, sind bereits zahlreiche experimentelle und klinische Arbeiten erschienen. Es hätte daher an sich kein besonderes Interesse, durch weitere Beispiele die Tatsache zu belegen, daß die pharmakodynamischen Eigenschaften der als Ausgangspunkt dienenden Naturstoffe auch bei weitgehender Abwandlung ihrer chemischen Konstitution in mehr oder minder großem Maße erhalten bleiben. Nun hat sich aber die überraschende Beobachtung ergeben, daß gewisse Glieder einer neuen Verbindungsreihe, zu der ein neuer von O. Eisleb[1] aufgefundener Weg führt, außer spasmolytischen Eigenschaften auch noch eine zentral analgetische Wirkung von morphinähnlichem Charakter besitzen, wie sie in diesem Ausmaße noch bei keiner synthetischen Verbindung relativ einfachen Aufbaues bisher festgestellt wurde.

Diese neue Körperklasse leitet sich vom 4-Phenylpiperidin ab. Aus der großen Zahl der dargestellten Verbindungen soll der 1-Methyl-4-phenyl-piperidin-4-carbonsäure-äthylester als Beispiel herausgehoben und näher besprochen werden, weil diese Verbindung ein gewisses Optimum hinsichtlich ihrer therapeutischen Eigenschaften aufweist und sich auch unter der Bezeichnung „Dolantin" in ausgedehnter klinischer Anwendung bewährt hat[2].

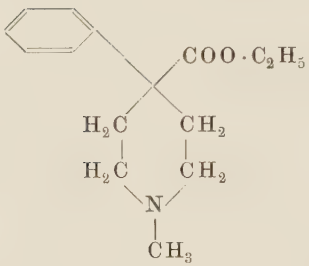
Im Anschluß an die Schilderung der wichtigsten Eigenschaften dieser Verbindung sollen dann kurz die allgemeinen Regeln besprochen werden,

[1] Eisleb, O., u. O. Schaumann: Dtsch. med. Wschr. **1939**, S. 967, DRP. 679281. — [2] Dietrich, H.: Ebenda **1939**, S. 969; Schäfer, F.: Ebenda S. 970; Althoff, H.: Therapie d. Gegenwart **1939**, S. 258; Rosenthal, H.: Münch. med. Wschr. **1939**, S. 1079; Werner, A.: Psychiatr.-neur. Wschr. **1939**, S. 441; Heydner, W.: Fortschr. Therapie **1940**, S. 33; Brunner, H.: Wien. med. Wschr. **1940**, S. 272.

die sich bezüglich der Zusammenhänge zwischen der spasmolytischen und analgetischen Wirksamkeit einerseits und Abänderungen am Molekül des Grundtyps andererseits ergeben haben.



4-Phenyl-piperidin



1-Methyl-4-phenyl-piperidin-carbonsäure-äthylester
(Dolantin)

1-Methyl-4-phenylpiperidin-4-carbonsäure-äthylester („Dolantin").

Chemisch-physikalische Eigenschaften.

Die freie Base bildet eine strahlig kristalline Masse, die bei 30° schmilzt und in Wasser nur wenig löslich ist. Die Lösung zeigt stark alkalische Reaktion. Das salzsaure Salz ist ein farbloses Kristallpulver vom Schmelzpunkt 187—188°, das in Wasser spielend mit neutraler Reaktion löslich ist. Die Lösung wird durch kurzes Kochen nicht zersetzt. Das Hydrochlorid hat einen charakteristischen schwach bitteren Geschmack, der nur kurz anhält. Auf der Mundschleimhaut bewirkt es eine geringe Anästhesie.

Spasmolyse.

a) Am Darm.

Methodik: Die spasmolytische Wirkung wurde am isolierten Dickdarm des Meerschweinchens in der üblichen Anordnung geprüft. Als kontrakturerregende Substanzen dienten: als neurotropes Gift der Carbaminsäureester des Cholins (Lentin), als muskulotroper Stoff das Bariumchlorid und schließlich noch Histamin. In Anlehnung an die Methode

von Junkmann[3] wurden die krampferregenden Stoffe der Vorratslösung zugegeben, mit der nach jedem Versuche die Apparatur durchspült wurde. Aus diesem Grunde wurde an Stelle des in der verwendeten Tyrodelösung rasch verseiften Acetylcholins das beständige Lentin gewählt, dessen Wirkungsmechanismus nach Kreitmair[4] qualitativ ja dem des Acetylcholins entspricht. Die Konzentrationen in der Badflüssigkeit betrugen für Lentin 10^{-7}, für Bariumchlorid 10^{-4} und für Histamin $2 \cdot 10^{-7}$. Als Vergleichssubstanzen dienten für die neurotrope Wirkung das Atropin und für die muskulotrope Wirkung das Papaverin.

In zahlreichen Versuchen, für die beifolgende Abb. 1 ein Beispiel gibt, wurden durchschnittlich folgende Verhältniszahlen gefunden, wobei die Wirkung des Dolantin jeweils gleich 1 gesetzt wurde (Tabelle 1).

Tabelle 1.

Gegen:	Lentin	$BaCl_2$	Histamin
Dolantin ..	1	1	1
Atropin ...	100—200	$^1/_{20}$	$^1/_4$
Papaverin ..	$^1/_{10}$—$^1/_{30}$	2—3	$^1/_{10}$

Wie schon Fromherz[5] in der Reihe der von ihm untersuchten Atropinmodelle beobachtet hat, ist das Wirkungsverhältnis an verschiedenen Darmstücken nicht konstant, so daß es nur möglich ist, Annäherungswerte zu geben.

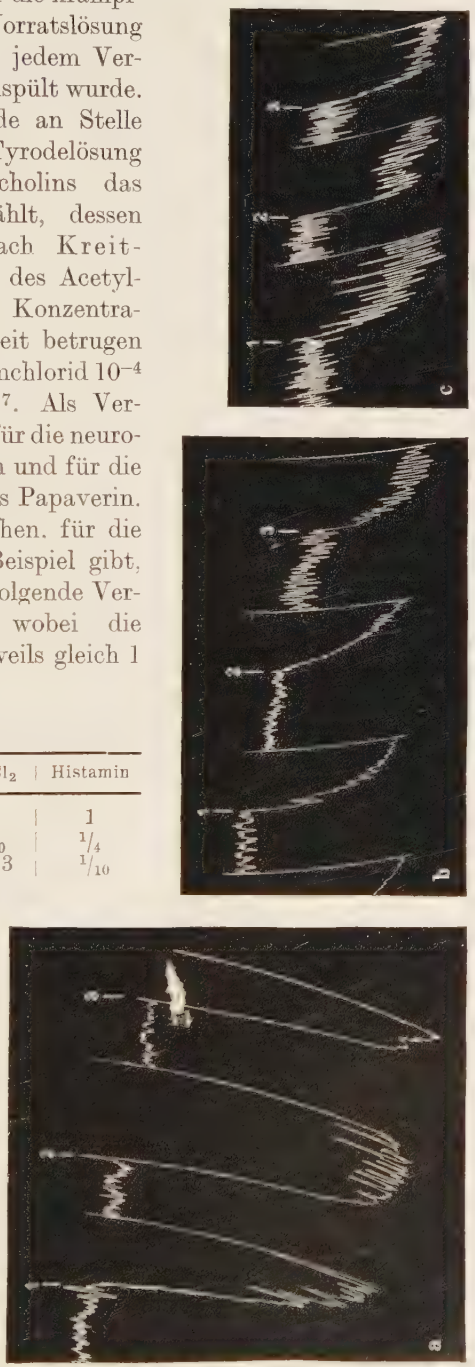


Abb. 1. Isolierter Meerschweinchen-Dickdarm in 50 ccm Tyrodelösung bei 37°. a) Lentin 10^{-7}. Bei 1: 0,05 γ Atropin, bei 2: 10 γ Dolantin, bei 3: 300 γ Papaverin. b) Bariumchlorid 10^{-4}. Bei 1: 10 mg Atropin, bei 2: 0,5 mg Dolantin, bei 3: 0,2 mg Papaverin. c) Histamin $2 \times 2 \cdot 10^{-7}$. Bei 1: 40 γ Atropin, bei 2: 10 γ Dolantin, bei 3: 100 γ Papaverin.

[3] Junkmann, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 552 (1937). — [4] Kreitmair: Ebenda **164**, 346 (1932). — [5] Fromherz, C.: Ebenda **173**, 86 (1933).

b) An den Bronchien.

Methodik: Zur Prüfung wurde das Histaminasthma des Meerschweinchens nach dem Vorgehen von Kallos und Pagel[6] herangezogen. Bei dieser Versuchsanordnung werden die Tiere in einem großen Exsikkator dem durch einen Zerstäuber erzeugten Nebel der betreffenden Lösungen ausgesetzt und die Zeit bis zum Auftreten schwerer Asthmasymptome bestimmt. Zunächst wurden die Tiere mit einer Histaminlösung 1 : 1000 in physiologischer Kochsalzlösung geeicht und die Tiere ausgeschaltet, bei denen binnen 5 Minuten keine schweren Symptome auftraten. Kontrollversuche ergaben, daß bei mehrmals wiederholter Einatmung sich die Empfindlichkeit der Tiere nicht wesentlich änderte. Dann wurden in der gleichen Histaminlösung die zu prüfenden Substanzen gelöst und der Versuch wiederholt.

Eine zweite Art der Prüfung wurde so vorgenommen, daß die Tiere die spasmolytisch wirksame Substanz prophylaktisch injiziert bekamen und dann nach verschiedenen Zeiten auf ihre Resistenz gegen die Histamineinatmung geprüft wurden.

Der Beginn des Asthmaanfalles äußert sich in beschleunigter, später verlangsamter schnappender Atmung mit sichtlich erschwertem Exspirium. Bringt man die Tiere in diesem Stadium an frische Luft, so erfolgt binnen wenigen Minuten Erholung, während sonst unter rascher Zunahme der Erstickungssymptome in kürzester Zeit der Tod eintritt.

Der verwendete Zerstäuber war einer der käuflichen Tancré-Inhalatoren mit Doppelkugel. Bei 1 kg/qcm Druck betrug die Nebelmenge bei dem verwendeten Zerstäuber pro Minute 8,8 Liter, die in derselben Zeit zerstäubte Flüssigkeitsmenge 0,134 ccm, die Nebeldichte daher 0,015 ccm

Tabelle 2.

Tier Nr.	1 ‰ Histamin	1 ‰ Histamin + 1 % Dolantin	1 ‰ Histamin + 3 ‰ Atropin	1 ‰ Histamin + 1 % Atropin	1 ‰ Histamin + 1 % Papaverin
1480	2′ +++	10′ ±			
1000	2′ +++	8′ +±			
1043	1′ +++	8′ +±			
1044	2′ +++	8′ +±	2′ +++	2′ +++	
1122	1′ +++		3′ +++	2′ +++	
1110	2′ +++		6′ +++		2′ +++
1118	2′ ++		3′ ++		2′ +++
1125	1′ +++	8′ +±			1′ +++
1179	2′ +++	10′ ±			

Die Zahlen bedeuten die Zeit, nach welcher der Versuch abgebrochen wurde.
+++ = schwerstes Asthma mit beginnenden Erstickungssymptomen.
++ = verlangsamte schnappende Atmung.
+± = deutlich erschwerte Atmung.
± = eben erkennbare Symptome.

[6] Kallos u. Pagel: Acta med. scand. (Schwd.) **91**, 292 (1937).

mit 0,015 mg Histamin pro Liter Luft. Bei gleichzeitiger Inhalation ergab sich, daß der Zusatz von 1 % Dolantin zu der vernebelten Histaminlösung 1 : 1000 den Asthmaanfall fast völlig verhinderte, während 1 % Atropin oder 1 % Papaverin vollkommen ohne Einfluß blieben (Tabelle 2).

Bei prophylaktischer Injektion läßt sich diese den Histaminkrampf der Bronchien verhindernde Wirkung noch besser zeigen. Bei einer Dosierung von 10 mg/kg subcutan ist die Wirkung binnen 5 Minuten voll entfaltet und hält etwa 1 Stunde an. Bei der doppelten Dosierung sind nach 1 Stunde alle Tiere, nach 2 Stunden 50% und nach 3 Stunden noch 25% der Tiere geschützt (Tabelle 3).

Tabelle 3.

Zeit nach der Injektion in Min.	Dosis in mg pro kg subcutan		
	5 mg	10 mg	20 mg
5	2	10, 10	10, 10, 10, 10, 10, 10
10	6	5, 10, 10	10, 10, 10, 10
20	8	8, 10	10, 10, 10, 10
40	9	10, 10	10, 10, 10, 10
60	2	10, 10, 6	10, 10, 10, 10
90		8, 8, 3, 2	6, 10, 7, 6, 2, 10, 10, 6
120		10, 5, 3, 9, 3, 9, 3, 2	6, 6, 9, 9, 1, 10, 10, 3, 10 10, 10, 10
180			3, 3, 10, 4, 4, 10, 5, 4, 5, 10, 10, 7, 10, 3, 10, 2

Die Zahlen bedeuten die Zeit in Minuten für je ein Tier bis zum Auftreten schwerer Asthmasymptome. Die Zahl 10 bedeutet, daß nach 10 Minuten langem Einatmen des Nebels einer zerstäubten 1 ‰igen Histaminlösung noch kein Asthma aufgetreten war.

Wirkung auf die Pupille.

Bei subcutaner Injektion verursachen bereits 3 mg/kg an der Katze eine deutliche Pupillenerweiterung, während bei direkter Einträufelung ins Auge erst eine 1 %ige Lösung eine schwache Erweiterung der Pupille bewirkt.

Wirkung auf die Speichelsekretion.

Nach der Versuchsanordnung von v. Issekutz[7] wurde am urethanisierten Kaninchen der Antagonismus gegen Pilocarpin geprüft. Wie aus den beifolgenden Versuchsprotokollen (Tabelle 4) hervorgeht, vermag Dolantin bei einer Dosierung von 20 mg kg subcutan zwar eine starke Verminderung des Speichelflusses herbeizuführen, die in ihrem Effekt aber wesentlich geringer ist als die Wirkung von 0,1 mg/kg Atropin.

[7] v. Issekutz: Z. exper. Path. u. Therap. **19**, 99 (1917).

Tabelle 4.

Zeit vom Beginn des Versuchs Min.	ccm	Speichelmenge pro 5 Min. ccm	Präparat	Zeit vom Beginn des Versuchs Min.	ccm	Speichelmenge pro 5 Min. ccm	Präparat
0— 5	15	15	10 mg/kg Pilocarpin subcutan	0— 3	5,0	8,3	10 mg/kg Pilocarpin subcutan
5—10	16	16		3— 8	16	16	
10—15	10	10	10 mg/kg Dolantin subcutan	8— 13	8	8	20 mg/kg Dolantin subcutan
15—25	11	5,5		13— 18	3	3	
25—35	10	5,0		18— 28	6	3	
35—45	7	3,5		28— 38	7,5	3,8	
45—55	6,5	3,25		38— 48	7	3,5	
55—65	6,0	3,0		48— 58	3	1,5	
65—75	6,0	3,0		58— 68	7	3,5	
75—85	7,0	3,5		68— 78	7	3,5	
0— 3	6	10	10 mg/kg Pilocarpin subcutan	0— 3	3	5	10 mg/kg Pilocarpin subcutan
3— 8	18	18		3— 8	14	14	
8—13	7	7	0,2 mg/kg Atropin subcutan	8— 13	7	7	0,1 mg/kg Atropin subcutan
13—18	2	2		13— 18	2	2	
18—28	0	0		18— 33	1	0,3	
28—48	0	0		33— 63	2	0,3	
				63—123	5,5	0,45	
				123—153	4,0	0,6	

Kreislauf.

Am isolierten Froschherzen wird die Acetylcholinwirkung deutlich antagonistisch beeinflußt. Eine volle Aufhebung der vagalen Erregung

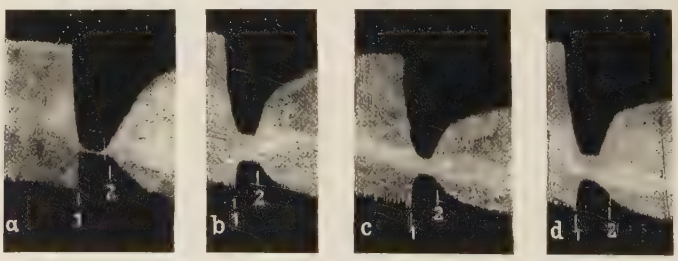


Abb. 2. Rechter Vorhof vom Meerschweinchen in 50 ccm Tyrodelösung bei 32°. a) Bei 1: 10 γ Acetylcholin, bei 2: 500 γ Dolantin. b) Bei 1: 10 γ Acetylcholin, bei 2: 1 γ Atropin. c) Bei 1: 10 γ Acetylcholin, bei 2: 200 γ Dolantin. d) Bei 1: 10 γ Acetylcholin, bei 2: 0,5 γ Atropin.

ist jedoch im Gegensatz zu Atropin auch durch Steigerung der Dosis nicht nachweisbar, da bei höheren Konzentrationen bereits die muskulotrop lähmende Wirkung in einer der Acetylcholinwirkung gleichgerichteten negativen Inotropie zur Geltung kommt.

Besser läßt sich ein quantitativer Vergleich mit Atropin am isolierten rechten Vorhof des Meerschweinchenherzens durchführen. Hier ist Atropin dem Dolantin etwa 400—500mal überlegen (Abb. 2).

Am Katzenblutdruck in der Versuchsanordnung nach Kühl[8] ist die vaguslähmende Wirkung gegenüber Acetylcholin im Vergleich zu Atropin viel schwächer, als sich nach den Ergebnissen am isolierten Darm und am Herzen erwarten ließe (Abb. 3 und 4).

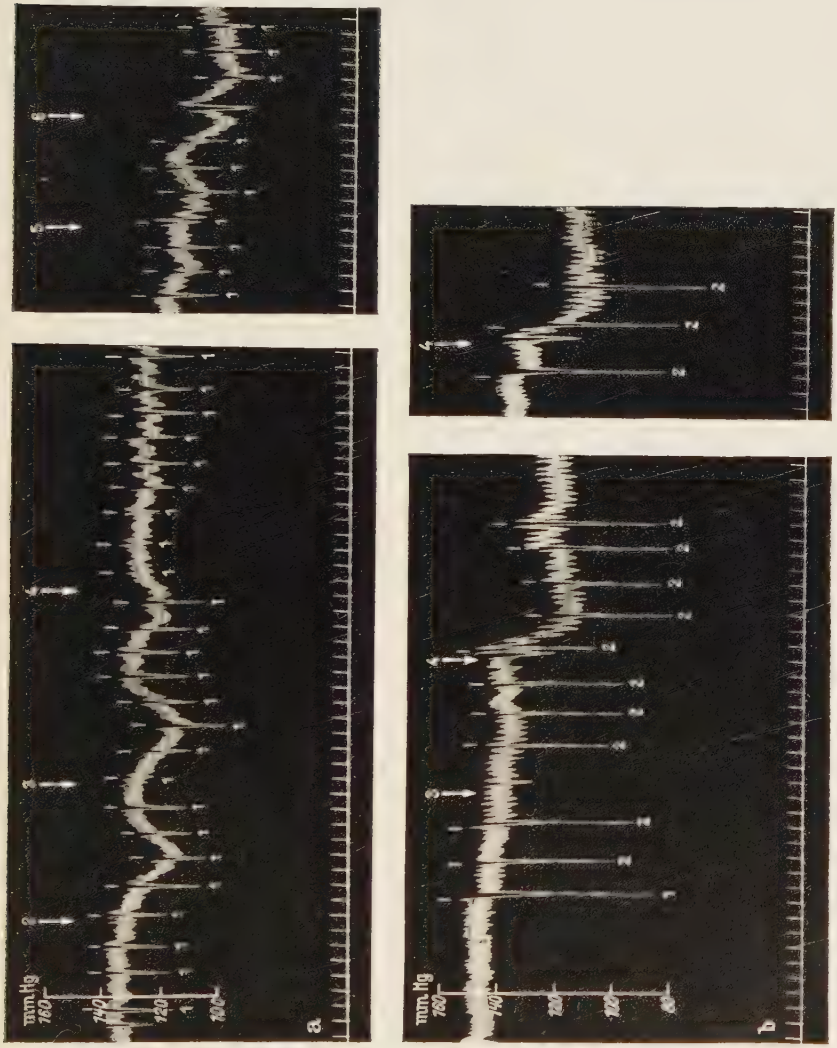


Abb. 3. a) Katze 3,7 kg, Urethan-Narkose. Bei 1: jedesmal 0,05 γ Acetylcholin i. v. Außerdem bei 2: 0,2 γ, bei 3: 1 γ, bei 4: 5 γ Atropin, bei 5: 1 mg, bei 6: 5 mg Dolantin. b) Katze 3,6 kg, Urethan-Narkose. Bei 1: 1 γ, bei 2: jedesmal 0,5 γ Acetylcholin i. v. Außerdem bei 3: 5 γ Atropin, bei 4: 5 mg Dolantin i. v. Zeitmarkierung = 1 Minute.

Einfluß auf die durch sympathikotrope Stoffe gedrosselte Nierendurchblutung.

Durch Suprarenin und nahestehende Verbindungen wird die Nierendurchströmung sehr stark gedrosselt. Eine besonders starke und anhaltende

[8] Kühl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **109**, 295 (1925).

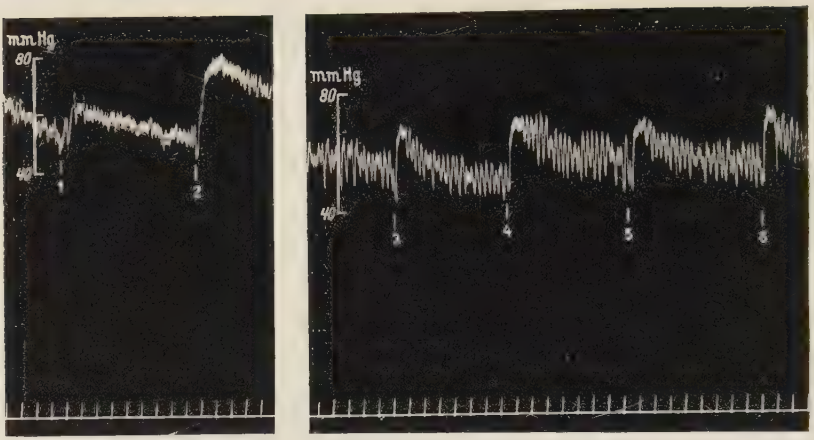


Abb. 4. Kaninchen 3,2 kg, Pernocton-Narkose. Dauerinfusion von 30 γ Acetylcholin pro kg und Minute. Bei 1: 500 γ Dolantin, bei 2: 5 γ Atropin, bei 3: 3 mg Dolantin, bei 4: 3 γ Atropin, bei 5: 2 γ Atropin. Zeitmarkierung = 1 Minute.

Tabelle 5.

Kaninchen, Chloralose 0,1 g/kg. Dauerinfusion von 0,7 ccm physiol. NaCl-Lösung pro Minute. Katheter in der Harnblase. Die Dosen sind pro Tier angegeben, die Zahlen bedeuten ccm Harn pro 15 Minuten. 6090 = 3-5-Dimethoxyphenyl-methylamino-äthanol.

27,0		7,0		15,0	
15,0		10,5		22,0	
16,0	10 mg 6090 i. m.	7,5		21,0	
1,0		10,5		18,0	
1,5	30 mg Dolantin i. m.	9,0	5 mg 6090 i. m.	15,0	
29,0		5,5		15,0	30 mg Dolantin i. m.
22,0		1,5		9,0	
15,0		2,5	15 mg Dolantin i. m.	8,0	
13,0		5,5		8,5	
10,0		14,0		7,0	
8,0		19,5		7,0	
4,5		22,0		9,0	
7,5		19,0		15,0	
13,0		24,0			
10,5		17,0			
14,5		16,5			
15,0	5 mg 6090 i. m.	17,0			
1,0		16,5			
0,5		17,0	10 mg 6090 i. m.		
0,2		2,5			
0,0	30 mg Dolantin i. m.	1,0			
4,0		0,0			
12,0		0,0	30 mg Dolantin i. m.		
13,0		9,0			
12,0		17,0			
		21,0			

Verminderung der Nierendurchblutung wird durch subcutane oder intramuskuläre Injektion von 3-5-Dimethoxyphenyl-methylamino-äthanol er-

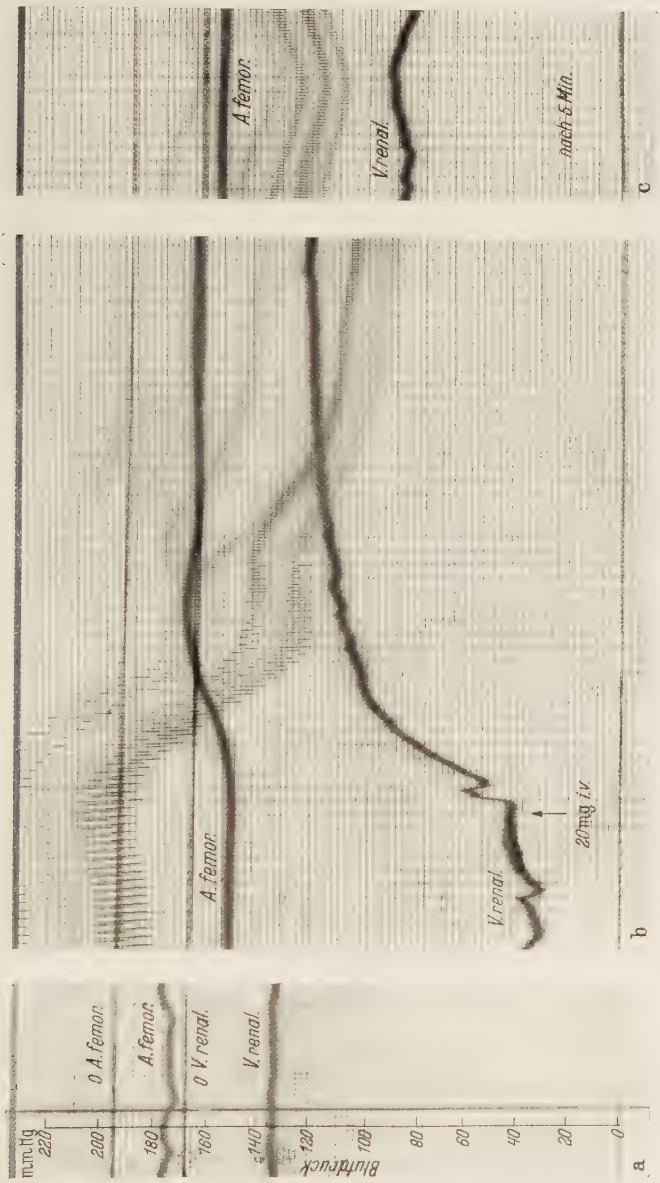


Abb. 5. Hund 10 kg. Morphin-Pernocton-Narkose. Thermostromuhr an Arteria femoralis und Vena renalis sin. Zeitmarkierung alle 2 Sekunden. a) normal, b) 30 Minuten nach i. m. Injektion von 30 mg 3, 5-Dimethoxyphenyl-methylamino-äthanol; starke Blutdrucksteigerung und Drosselung der Nierendurchblutung. Beim Pfeil 20 mg Dolantin i. v.: Absinken des Blutdrucks und Ansteigen der Nierendurchblutung auf nahezu normale Werte. c) 5 Minuten später.

zielt. Diese Verengerung der Nierengefäße läßt sich durch entsprechende Gaben von Dolantin vollkommen aufheben (Abb. 5, 6 und 7).

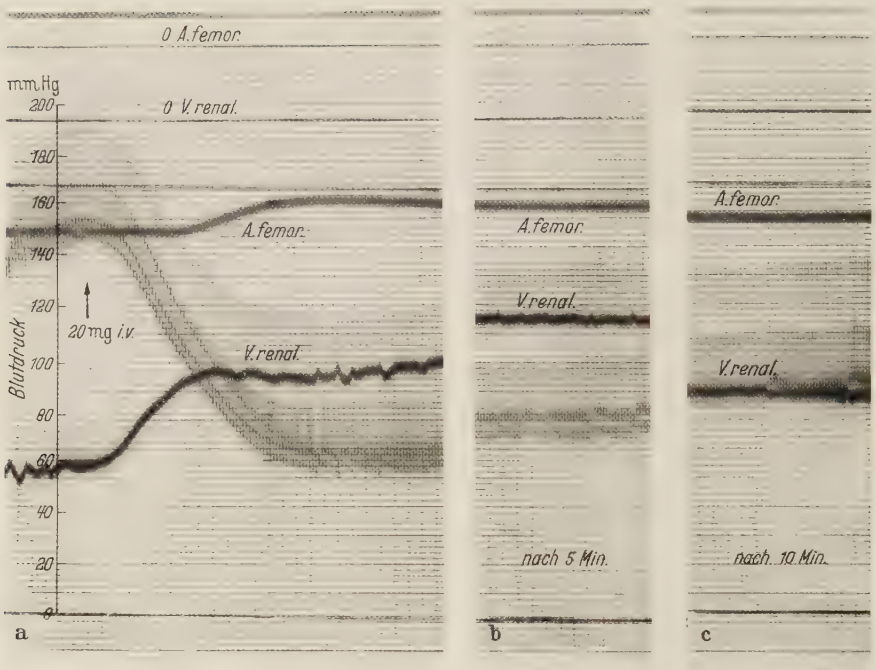


Abb. 6. Die gleiche Versuchsanordnung wie bei Abb. 5. a) 20 mg Dolantin i. v. b) 5 Minuten später. c) 10 Minuten später.

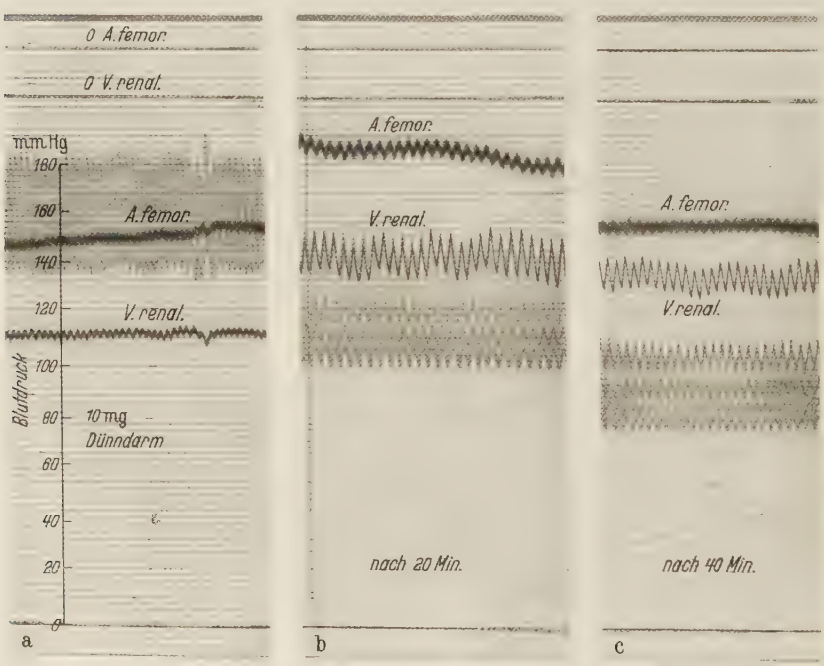


Abb. 7. Katze 3 kg, Urethan-Narkose. Thermostromuhr an Arteria femoralis und Vena renalis. a) 40 Minuten nach 10 mg 3, 5-Dimethoxyphenyl-methylamino-äthanol i. m. Es werden 10 mg Dolantin in das Dünndarmlumen injiziert. b) 20 Minuten später: Blutdrucksenkung und Zunahme der Nierendurchblutung. c) 40 Minuten nach der Dolantingabe.

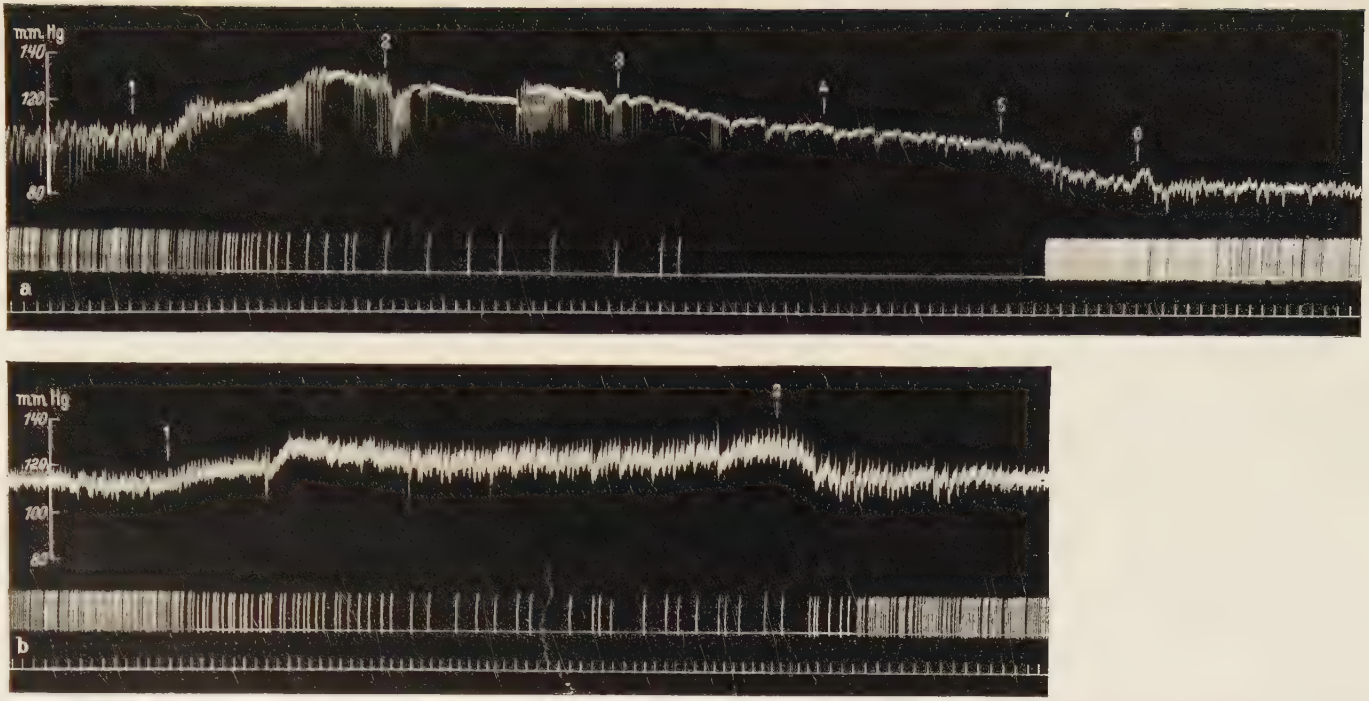


Abb. 8. a) Kaninchen 3,8 kg. Pernocton-Narkose. Oben: Blutdruck. Mitte: Harn, Tropfenregistrierung aus Blasenkanüle. Unten: Zeitmarkierung — 1 Minute. Ab 1: Dauerinfusion von 40 γ 3, 5-Dimethoxyphenyl-methylamino-äthanol pro kg und Minute: fast völlige Diuresesperre. Ab 2: Zusätzlich 40 γ Atropinsulfat pro kg und Minute. Ab 3: Zusätzlich 80 γ Atropinsulfat pro kg und Minute. Ab 4: Zusätzlich 120 γ Atropinsulfat pro kg und Minute: die Diuresesperre bleibt bestehen, die Vaguspulse verschwinden. Ab 5: Zusätzlich statt Atropin 120 γ Dolantin pro kg und Minute: Aufhebung der Diuresesperre, Blutdrucksenkung auf den Ausgangswert. Bei 6 Ende der Dauerinfusion. b) Kaninchen 3,1 kg. Anordnung der Kurven wie bei a). Ab 1: Dauerinfusion von 60 γ 3, 5-Dimethoxyphenyl-methylamino-äthanol pro kg und Minute: starke Diureschemmung. Ab 2: Zusätzlich 180 γ Dolantin pro kg und Minute: Rückkehr von Diurese und Blutdruck zur Norm.

Der Drosselung der Durchblutung entspricht eine starke Verminderung der Diurese, die bis zur völligen Anurie führen kann. Auch diese Diuresehemmung kann durch Dolantin vollkommen aufgehoben werden (Tabelle 5). Atropin in der gleichen Dosierung ist wirkungslos (Abb. 8).

Bei nicht vorbehandelten Tieren wird durch Dolantin weder eine Steigerung der Nierendurchblutung noch auch der Diurese bewirkt. Es tritt eher eine geringe Hemmung der Diurese auf.

Blutzucker.

Eine typische Wirkung auf den Blutzucker kommt dem Dolantin nicht zu. Am nicht fastenden Kaninchen wird durch Dosen bis zu 10 mg/kg subcutan der Blutzuckerspiegel kaum verändert und auch bei 20 mg/kg nur unwesentlich erhöht. Bei seit 24 Stunden hungernden Kaninchen ist eine mäßige Blutzuckersteigerung bereits bei 10 mg/kg subcutan zu beobachten. Auch die blutzuckersteigernde Wirkung des Suprarenins wird nicht beeinflußt (Tabelle 6).

Tabelle 6.

Zahl der Tiere	Dosis mg/kg subcutan	Zeit nach der Injektion in Min. 0	60	120	180
		Gefütterte Tiere.			
2	5 mg	100	97	91	90
2	10 „	100	102	106	98
2	20 „	100	117	120	112
		Hungertiere.			
4	10 mg	100	130	128	110
		Einfluß auf die Suprarenin-Hyperglykämie; gefütterte Tiere.			
4	0,1 mg Suprarenin	100	240	255	155
4	0,1 mg Suprarenin, 10 mg Dolantin	100	236	260	145

Die Zahlen geben die durchschnittlichen auf 100 mg% Anfangswert reduzierten Blutzuckerwerte nach Hagedorn-Jensen an.

Körpertemperatur.

Ein irgendwie charakteristischer Einfluß ist hier nicht nachzuweisen. Erst die relativ hohe Dosis von 6 mg/kg läßt eine geringe Tendenz zu einem Ansteigen der Temperatur erkennen (Tabelle 7).

Tabelle 7.

Kaninchen, Temperatur alle 30 Minuten rectal gemessen.

39,5	39,5	5 mg/kg subcutan	39,3	39,5	39,5	39,6	39,5	39,5	39,5
39,6	39,3	5 „ „	39,1	39,2	39,3	39,5	39,5	39,4	39,5
39,5	39,3	10 „ „	39,3	39,6	39,6	39,7	39,8	39,7	39,8
39,9	39,5	10 „ „	39,3	39,5	39,8	40,0	40,0	40,1	40,0
39,1	38,9	20 „ „	38,6	38,9	39,0	39,2	39,2	39,2	39,1
40,0	40,2	20 „ „	40,2	40,5	40,7	40,4	40,4	40,4	40,3

Analgesie.

a) An Mäusen.

Methodik: Die Schmerzempfindlichkeit der Tiere wurde nach dem einfachen von Haffner[9] angegebenen Verfahren durch Kneifen der Tiere mit einer Pinzette an der Schwanzwurzel geprüft. Die Injektion erfolgte subcutan unter die Rückenhaut.

5 mg/kg subcutan bewirken eine eben erkennbare Abschwächung der Schmerzreaktion, die bei 20 mg/kg bereits ganz deutlich zu beobachten ist. Bei dieser Dosierung erfolgt die Reaktion nicht nur abgeschwächt, sondern auch verzögert, wobei sich die Tiere über den Ort der Schmerzempfindung desorientiert zeigen. Die Dosis von 50 mg/kg endlich hebt die Schmerzreaktion vollkommen auf; die Wirkung hält bis zu einer Stunde und länger an. In Vergleichsversuchen mit Morphin wurden zur Erzielung einer gleichen Wirkung 7 mg/kg benötigt.

Diese Analgesie durch Dolantin ist von keinerlei Anzeichen einer zentralen Narkose begleitet; bei Dosierungen von 20 mg/kg an aufwärts stellen sich im Gegenteil Anzeichen einer motorischen Erregung ein.

Besonders charakteristisch für die Analgesie durch Dolantin ist, daß sie von der gleichen starren Schwanzhaltung begleitet wird, die für die Verbindungen der Morphingruppe charakteristisch, wenn auch nicht streng spezifisch ist: der Schwanz wird S-förmig über dem Rücken gekrümmt getragen. Nach dem Vorgehen von L. Maier[10] wurden für verschiedene Dosen von Morphin bzw. Dolantin vergleichsweise die Prozentzahlen der Tiere bestimmt, die dieses Schwanzphänomen zeigten. Wie die beifolgende Tabelle 8 zeigt, verhalten sich die Wirkungsstärken von Dolantin und Morphin, an der Schwanzreaktion gemessen, ungefähr ebenso zueinander, wie wenn man den analgetischen Effekt als Vergleichsgrundlage nimmt.

Tabelle 8.

Dolantin		Morphin	
Dosis mg/kg	% positiv reagierender Tiere	Dosis mg/kg	% positiv reagierender Tiere
5	0	1	30
7	30	1,5	60
10	70	2,0	70
20	80	3,0	90
30	90		

b) Am Kaninchen.

Auch der von Amsler und Stender[11] erstmalig beschriebene und von Weiss, Keil u. a.[12] zum Nachweis zentral analgetischer Wirkung

[9] Haffner: Dtsch. med. Wschr. **1929**, S. 731. — [10] Maier, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 163 (1931). — [11] Amsler, C., u. O. Stender: Ebenda **160**, 195 (1931. — [12] Weiss, A.: Ebenda **167**, 177 (1932); Keil, W., u. G. Hepp: Ebenda **179**, 420 (1935).

Tabelle 9. Kaninchen, bei 0 Minuten 1%ige Novocainlösung ins rechte und linke Auge.

Zeit in Min.	r.	l.	r.	l.	r.	l.	r.	l.	r.	l.	r.	l.	r.	l.	r.	l.
6	–	–	–	–	++	+++	–	–		–	–	–	–	–	+++	+++
	3 mg kg i. v.		3 mg/kg i. v.				5 mg kg i. v.		5 mg/kg i. v.		5 mg/kg i. v.		10 mg/kg i. v.		10 mg/kg i. v.	
9			–	–	++	++	++	+++	+	+++	++	+	+++	+++	+++	++
12	–	–		–	++	++	+++	++	++	++	+++	++	+++	+++	++	++
15	–	–	–	±	++	+	++	+	++	+++	++	++	+++	+++	++	++
18	±	±	–	+	++		+	++	++	++	++	++	+++	+++	++	+
21	–	+	–	±	++	–	++	++	+	++	++	++	+++	+++	++	+
24		–	–	–	++	–	++	++	+	++	+	+	++	+++	+	–
27					++	–	++	+	+	+	+	+	+	++	–	–
					++	–							+	+	10 mg/kg i. v.	
30					+	–	++	+	–	+	+	+	–	–	+++	+++
33					–	–	+	+	–	–	–	–			+++	+++
					5 mg/kg i. v.										+++	+++
36					+++	++	–								++	++
39					++	++	–	–							+	+++
42					+++	++									+	++
45					+++	++									+	+
48					++	+									–	–
51					++	+										
54					+	+										
57					–	–										

+++ = komplette Anästhesie, kein Reflex nach 30 Summationsreizen.
++ = deutliche Anästhesie, kein Reflex nach 10 Summationsreizen.
+ = angedeutete Anästhesie, Reflex nach 5 Summationsreizen.

herangezogene Synergismus zwischen einem subcutan oder intravenös injizierten Analgetikum und der lokalen Anästhesie von Lokalanästhetica an der Kaninchen-Cornea kann beim Dolantin nachgewiesen werden.

Methodik: In enger Anlehnung an die oben zitierten Autoren wurde folgendermaßen vorgegangen:

Kaninchen wurden in beide Augen 0,5 ccm einer 1%igen Lösung von Novocain-Chlorhydrat getropft und 1 Minute einwirken lassen. Nach dem Abklingen der Anästhesie oder, wenn überhaupt keine eingetreten war, sofort wurde Dolantin intravenös injiziert und nun wieder Dauer und Tiefe einer eventuell auftretenden Anästhesie geprüft.

Die Grenze, bei der Dolantin eine Hypästhesie der Cornea wieder zur vollen Anästhesie umwandelt, liegt bei etwa 5 mg/kg intravenös. Bei dieser Dosis wird eine Wiederkehr der Anästhesie von 6—10 Minuten Dauer erzielt, die bei Verdoppelung der Dosis auf etwa 15 Minuten Dauer ansteigt. 3 mg/kg intravenös sind ohne deutliche Wirkung (Tabelle 9). Vergleichsversuche mit Morphin ergaben für dieses bei gleicher Versuchsanordnung an den gleichen Tieren eine Wirkungsschwelle bei etwa 3 mg/kg intravenös, was mit dem von Keil und Hartwig-Pöhls[13] an größeren Versuchsreihen gefundenen Mittelwert von 3,6 mg/kg intravenös in guter Übereinstimmung steht.

Wirkung auf die Atmung.

Am urethanisierten Kaninchen ist durch 3 mg/kg intravenös eine deutliche Abnahme des Atemvolumens, die in erster Linie auf einer Verlangsamung der Atmung beruht, festzustellen. Diese Wirkung ist auch am nichtnarkotisierten Tier zu beobachten (Abb. 9).

Wirkung auf den Hustenreflex.

Methodik: Die Prüfung erfolgte nach dem Vorgehen von Ernst[14] an Katzen, bei denen durch intrapleurale Injektion von Lugolscher Lösung eine sterile Pleuritis gesetzt worden war. Beklopfen oder schwaches Kneifen der Trachea löst bei diesen Tieren einen typischen Hustenanfall aus.

Die subcutane Injektion von 5 mg Dolantin/kg war ohne merklichen Einfluß: erst die Dosis von 10 mg/kg führte im Laufe von 30 Minuten zu einer starken Abschwächung des Hustenreflexes, der durch 15 mg/kg vollkommen unterdrückt wurde. An denselben Tieren hoben 2 mg/kg Morphin den Hustenreflex nach 20 Minuten vollkommen auf.

[13] Keil, W., u. F. Hartwig-Pöhls: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 285 (1936). — [14] Ernst: Arch. internat. Pharmacodynam. **58**, 363 (1938).

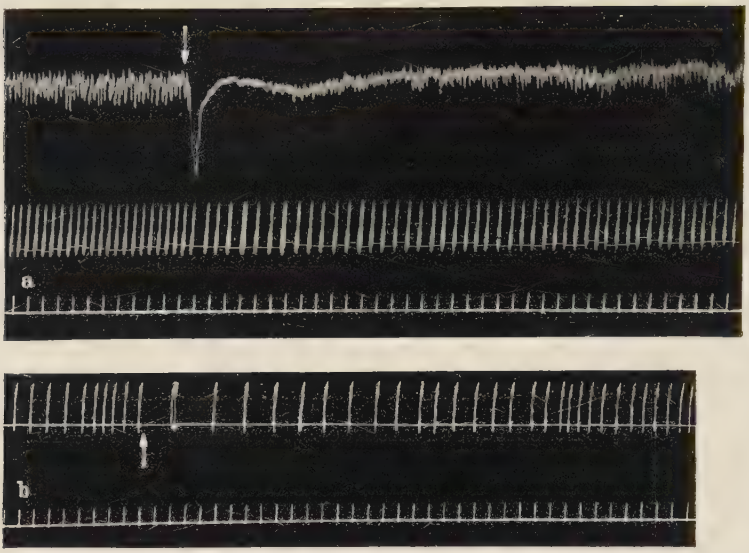


Abb. 9. a) Kaninchen 3,5 kg, Urethan-Narkose. Oben: Blutdruck. Unten: Atemvolumen mit Gasuhr nach Gildemeister; jeder Strich entspricht 350 ccm. Zeitmarkierung = 1 Minute. Beim Pfeil 2 mg Dolantin pro kg i. v. Kurze Blutdrucksenkung um 32 mm Hg, Abnahme des Atemvolumens. b) Kaninchen 3,3 kg ohne Narkose. Das Tier sitzt bis zum Hals in einem als Onkometer dienenden luftdichten Kasten. Die durch die Thoraxexkursionen verdrängte Luft wird nach Gleichrichtung mit einer Gildemeisterschen Gasuhr gemessen. Jeder Strich entspricht 350 ccm. Nach Dolantin 6 mg pro kg i. v. starke Abnahme des Atemvolumens. Zeitmarkierung = 1 Minute.

Toxizität.

Die akute Toxizität ergibt sich aus folgender Tabelle 10.

Tabelle 10. Toxizität.

	Mäuse								Kaninchen							
	subcutan				intravenös				per os		subcutan		intravenös			
Dosis in mg/kg ..	80	100	150	200	30	50	60	80	500	700	100	150	20	25	30	40
Zahl der Tiere ...	5	10	10	10	5	5	10	10	4	4	3	3	4	3	5	3
Davon überlebend	5	8	5	2	5	4	6	2	4	2	3	2	3	2	3	—
Tot	—	2	5	8	—	1	4	8	—	2	—	1	1	1	2	3
Mortalität in % .	0	20	50	80	0	20	40	80	0	50	0	33	25	33	40	100

Die Schnelligkeit der Entgiftung im Organismus wurde für das Kaninchen durch intravenöse Dauerinfusion bestimmt (Tabelle 11). Die Grenze der Entgiftungsfähigkeit liegt für das Kaninchen bei 0,8—1,0 mg pro kg und Minute.

Im Elektrokardiogramm lassen sich bei dieser Grenzdosis innerhalb der ersten Stunde der Infusion bis zu einer Gesamtmenge von 60 mg/kg keine Veränderungen erkennen (Abb. 10).

Tabelle 11. Dauerinfusion.

Gewicht kg	mg/kg/Min.	mg/Min.	ccm/Min.	Konzentration mg in ccm		Dauer Min.	Gesamtmenge pro kg		Ergebnis
							mg	mg	
1,95	0,6	1,17	0,38	351	114	275	312	165	lebt
2,2	0,6	1,32	0,38	396	114	300	396	180	„
1,8	0,6	1,08	0,38	324	114	300	324	180	„
2,0	0,7	1,4	0,38	640	172	390	546	273	„
2,35	0,8	1,88	0,61	564	183	300	564	240	tot
2,0	0,8	1,6	0,61	480	183	280	448	224	lebt
1,9	0,8	1,52	0,61	456	183	300	456	240	„
2,15	0,8	1,72	0,61	516	183	195	336	156	tot
1,8	0,8	1,44	0,38	576	152	330	475	264	lebt
1,8	0,8	1,44	0,38	576	152	180	259	144	tot
2,25	1,0	2,25	0,61	450	122	180	408	180	tot
3,4	1,0	3,4	0,61	1020	183	240	816	240	lebt*
2,46	1,0	2,46	0,61	492	122	150	258	150	tot**
3,2	1,0	3,2	0,61	960	183	240	768	240	lebt*
1,85	1,3	2,40	0,61	480	122	160	384	208	tot
2,2	1,3	2,86	0,61	572	122	100	286	130	„
2,7	1,5	4,05	0,61	810	122	110	446	165	„
2,1	1,5	3,15	0,61	680	122	180	570	270	„
2,3	2,0	4,6	0,61	400	61	80	368	160	„

* In Pernoctonnarkose. — ** Nach 120 Min. Pause von 60 Min.

Die Verträglichkeit bei langdauernder täglicher Verabreichung kleiner Dosen ergibt sich aus Tabelle 12.

Eine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens der Tiere war während der 21tägigen Behandlungszeit nicht festzustellen. Der Blutbefund blieb innerhalb der für die verwendeten Tierarten nach Klieneberger[15] normalen Schwankungsbreite. Der Harn war stets frei von Eiweiß und Zucker.

Die Vergiftungssymptome sind für Kaninchen wenig charakteristisch. Die Tiere gehen unter

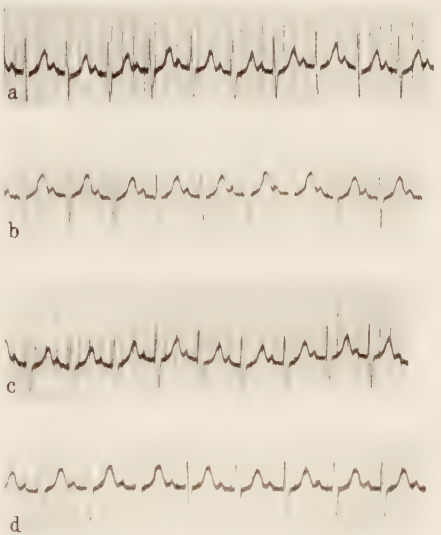


Abb. 10. Kaninchen. Dauerinfusion von 1 mg Dolantin pro kg und Minute. Elektrokardiogramm mit dem Spannungselektrokardiographen von Siemens. Ableitung: Anus-oesophagus. a) Bei Beginn der Infusion, b) nach 10 Minuten, c) nach 30 Minuten, d) nach 60 Minuten.

[15] Klieneberger, C.: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, II. Aufl., Leipzig 1927.

Tabelle 12.

Tierart	Tägliche Dosis	Datum	Gewicht	Erythrocyten	Leukocyten	O. H. g in 100
Kaninchen	2 mg/kg per os	15. III.	2,5	7 640 000	5 920	18,0
		22. III.	2,3	8 050 000	9 600	18,0
		5. IV.	2,45	6 890 000	9 760	17,8
Kaninchen	2 mg/kg per os	15. III.	2,7	6 210 000	33 600	14,2
		22. III.	2,3	5 710 000	12 640	15,0
		5. IV.	2,5	4 860 000	7 680	14,6
Katze	2 mg/kg per os	15. III.	2,8	6 990 000	4 480	15,0
		22. III.	3,2	7 470 000	8 320	14,0
		5. IV.	3,0	5 070 000	10 080	10,0
Katze	2 mg/kg per os	15. III.	3,6	5 870 000	18 400	14,0
		22. III.	3,4	8 040 000	17 600	14,6
		5. IV.	3,1	6 750 000	19 360	15,0
Hund	1 mg/kg subcutan	15. III.	21,7	6 780 000	11 200	18,4
		23. III.	22,3	6 340 000	13 760	19,2
		5. IV.	24,5	7 480 000	12 640	21,8

Krämpfen an Atemlähmung ein, ohne daß Anzeichen einer narkotischen Wirkung zu beobachten sind.

Auch an Mäusen steht bei toxischen Dosen eine zentrale Erregung im Vordergrund. Besonders in die Augen fallend ist hier die bereits erwähnte eigentümliche, nach aufwärts oder über den Rücken gerichtete starre Haltung des Schwanzes.

Sehr eindrucksvoll ist das Verhalten von Katzen. Bei Dosen über 20 mg/kg subcutan werden die Tiere zunächst scheu und schreckhaft, werden unruhig und aufgeregt und nehmen eine Abwehrstellung gegen einen eingebildeten Feind ein. Dieses Verhalten steigert sich schließlich bis zu einer ausgesprochenen Bösartigkeit.

Resorption und Ausscheidung.

Bei subcutaner Injektion erfolgt die Resorption sehr rasch. In den Versuchen am Histaminasthma, an der Nierendurchströmung und an der Diurese läßt sich der Beginn der Wirkung bereits nach 5–10 Minuten feststellen. Bei Verfütterung mit der Schlundsonde tritt die Wirkung nach 15—20 Minuten auf. Im Harn werden nur geringe Mengen unverändert ausgeschieden.

Zum qualitativen und annähernd quantitativen Nachweis kann die Färbung benutzt werden, die Dolantin mit Formaldehyd-Schwefelsäure gibt. Dolantin oder der nach Staas-Otto erhaltene Rückstand wird in 3–4 ccm konzentrierter Schwefelsäure aufgenommen und mit 5–10 mg Para-Formaldehyd oder 3—4 Tropfen Formalin versetzt. Nach einigem Stehen oder mäßigem Erwärmen entsteht eine lachs- bis granatrote Färbung.

Beziehungen zwischen Konstitution und Wirkung.

In der folgenden Tabelle 13 sind eine Anzahl der von O. Eisleb aufgebauten Derivate des 4-Phenyl-piperidins derart zusammengestellt,

Tabelle 13.

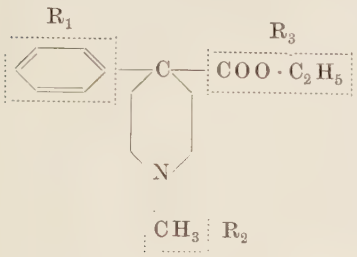
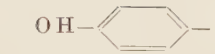
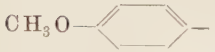
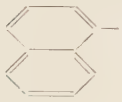
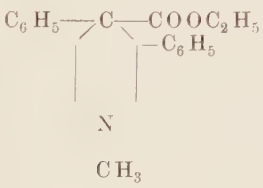
	Dolantin	L.	Ba.	Hi.	Analg.
	8 909	1	1	1	1
1. Veränderungen am Phenylkern.					
R_1 =					
I. 	9 366	1/4	3/4	1/5	1/5
II. 	9 373	1/4	1	1/5	θ
III.	9 369	1/4	1/3	1/3	1/6
IV. 	9 371	1/3	3	2	θ
2. Veränderungen am Piperidin-Ring.					
R_2 =					
V. $-H$	9 091	1	1/2	3/4	< 1/6
VI. $-C_2H_5$	10 111	1	1	3/4	3/4—1
VII. $-n-C_3H_7$	10 110	1/6	1/4	1/4	1/2
VIII. $-C_4H_9$	9 116	1/7	1	1/3	3/4—1
IX. $-C_6H_{11}$ Cyklo	9 455	1/10	3/4	1/2	θ
X. $-CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH$	9 584	1/4	1	1/3	2/3
XI.	9 257	3—4	θ		θ
XII. $-NH_2$	9 576	1/100	1	1/30	1/4
XIII. $-CH_2 \cdot CH_2 \cdot N<^{C_2H_5}_{C_2H_5}$	9 574	1/4	2	1/10	1/6
XIV. 	9 967	1/15	1/3	1/15	θ

Tabelle 13 (Fortsetzung).

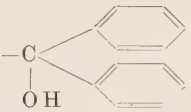
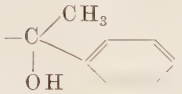
		Dolantin	L.	Ba.	Hi.	Analg.
	3. Veränderungen an der Estergruppe.					
	$R_3 =$					
XV.	$-COO \cdot CH_2$	9086	1	$^1/_2$	1	$^3/_4$—1
XVI.	$-COO \cdot C_4H_9$	9087	1	$1^1/_2$	$1^1/_2$	$^1/_6$
XVII.	$-COO \cdot CH_2-C_6H_5$	9088	1	1	$^1/_2$	$^1/_6$
XVIII.	$-COO-C_6H_5$	9374	1	2	1	$^1/_5$
XIX.	$-COO \cdot CH_2CH_2N<^{C_2H_5}_{C_2H_5}$	9160	$^2/_3$	$^2/_3$	$^1/_{30}$	θ
	4. Amide.					
	$R_3 =$					
XX.	$-CO \cdot NH_2$	9375	$^1/_{50}$	$^1/_{10}$	$^1/_{100}$	θ
XXI.	$-CO \cdot N<^{C_2H_5}_{C_2H_5}$	9114	3	2	$^1/_2$	θ
XXII.	$-CO \cdot NH \cdot CH_2CH_2N<^{C_2H_5}_{C_2H_5}$	9164	$^1/_{10}$	$^1/_3$	$^1/_{30}$	θ
XXIII.	$-CO \cdot NH \cdot CO \cdot NH_2$	9372	$^1/_{20}$	$^1/_{20}$	$^1/_{20}$	θ
	5. Ketone.					
	$R_3 =$					
XXIV.	$-CO \cdot CH_3$	9670	$^1/_{10}$	$^1/_3$	$^1/_2$	$\theta < ^1/_6$
XXV.	$-CO-CH_2CH_3$	9701	1	1	$^1/_3$	$^1/_2$
XXVI.	$-CO-CH<^{CH_3}_{CH_3}$	9877	2	2	$^1/_6$	$^1/_2$
XXVII.	$-CO-C_3H_7$	9933	1	1	$^1/_2$	1
XXVIII.	$-CO-CH_2CH<^{CH_3}_{CH_3}$	9932	3	$1^1/_2$	1	$^1/_2$
XXIX.	$-CO-C_6H_{13}$ n.	9875	$^1/_2$	5	$^1/_5$	θ
XXX.	$-CO-C_6H_{11}$ cykl.	9876	3	3	$^1/_3$	$^1/_4$
XXXI.	$-CO-CH_2CH_2-C_6H_5$	9885	1	5	$^1/_{10}$	$^1/_4$
XXXII.	$-CO-CH_2-C_6H_5$	9713	1	5	$^4/_5$	$< ^1/_6$
XXXIII.	$-CO-C_6H_5$	9671	10	5	4	$< ^1/_6$
XXXIV.	$-CO-C_6H_4-OH$	9884	4	1	1	$^1/_4$
XXXV.	$-CO-C_6H_4-O \cdot CH_3$	9883	1	3	$^1/_{10}$	$^1/_2$
XXXVI.	$-C(=N \cdot OH)-CH_2-CH_3$	9703	$^1/_{10}$	$^1/_2$	1	$^3/_4$
XXXVII.	$R_3 = -CO \cdot CH_2 \cdot OH_3$ $R_2 = -H$	9909	$^1/_{10}$	$1^1/_2$	$^1/_{10}$	$^1/_6$
XXXVIII.	$R_3 = -CO \cdot CH_2 \cdot CH_3$ $R_2 = -C_6H_{11}$	9921	$^1/_4$	1	$^1/_{10}$	$^1/_2$

Tabelle 13 (Fortsetzung).

		Dolantin	L.	Ba.	Hi.	Analg.
XXXIX.	$R_3 = -CO \cdot CH_2 \cdot CH_3$ $R_2 = -CH_2-C_6H_5$	9908	1/25	2	1/30	1/2

6. Carbinole.

$R_3 =$

XL.		9685	1/6	3	1/20	0
XLI.		9700	10	2	2	1/4
XLII.		9688	1/20	0	1/20	0

daß aus ihr die Zusammenhänge zwischen Abänderung in der Konstitution und der Änderung des Wirkungsbildes ersichtlich werden. Die einzelnen Derivate wurden je nach dem Teil des Moleküls, in dem die Abwandlungen stattgefunden haben, in Gruppen zusammengefaßt. Die Wirkung des 1-Methyl-4-phenylpiperidin-4-carbonsäure-äthylesters (Dolantin) wurde gleich 1 gesetzt. Um Raum zu sparen, wurde in der Tabelle immer nur die Konstitution derjenigen Gruppe aufgezeichnet, an der die Veränderungen gegenüber dem Grundtyp stattgefunden hatten. Die ersten drei Zahlen geben die relative spasmolytische Wirksamkeit gegenüber Lentin (L), Bariumchlorid (Ba) und Histamin (Hi), die vierte Zahl die relative analgetische Wirksamkeit an. Die Zahlen nach den Formeln sind die Darstellungsnummern der Präparate. Im einzelnen ergeben sich folgende Zusammenhänge:

1. Veränderungen am Phenylkern.

a) Analgesie.

Die Einführung von Hydroxyl (I), Methoxyl (II) und NH_2 (III) verursacht Abschwächung bis Aufhebung.

Ersatz des Phenyl durch Naphthyl (IV) hebt die analgetische Wirkung auf.

b) Spasmolyse.

Die Vagus-Wirkung wird durch jede Veränderung des Phenylkerns abgeschwächt.

Die muskulotrope Wirkung wird durch OH (I) und CH_3O (II) nicht verändert, durch NH_2 (III) abgeschwächt, durch Naphthyl (IV) verstärkt.

2. Veränderungen am Piperidin-Ring.

a) Analgesie.

Für die Substitution am Stickstoff liegt beim Methyl und Äthyl das Optimum. Das sekundäre Amin (V) und die Cyclohexylverbindung (IX) sind so gut wie wirkungslos; beim Propyl (VII) beginnt die Wirkung bereits abzunehmen. Auch die Oxäthylverbindung (X) ist schwächer wirksam. Die quaternäre Verbindung (XI) ist wirkungslos. Eine basische Gruppe am N (XII, XIII) schwächt die Wirkung ab. Eine Phenylgruppe in 3-Stellung (XIV) hebt die Wirkung auf.

b) Spasmolyse.

Die Vagus-Wirkung nimmt von der N-Propylverbindung (VII) an stark ab; die quaternäre Verbindung (XI) ist dagegen deutlich stärker wirksam. Bemerkenswert ist die so gut wie fehlende Wirkung bei der 1-NH_2-Verbindung (XII).

Auf die muskulotrope Wirkung haben Veränderungen des Alkyls am N wenig Einfluß, nur die quaternäre Verbindung (XI) ist hier wirkungslos.

3. Veränderungen an der Estergruppe.

a) Analgesie.

Hier liegt das Optimum deutlich bei der Äthylverbindung (Dolantin). Die Ester höherer Alkohole (XVI, XVII), des Phenols (XVIII) und basischer Alkohole (XIX) sind wesentlich schwächer wirksam oder wirkungslos.

b) Spasmolyse.

Die Vagus-Wirkung und die muskulotrope Wirkung werden wenig beeinflußt.

4. Amide.

a) Analgesie.

Sämtliche Amide sind wirkungslos.

b) Spasmolyse.

Die Amide sind wenig wirksam, ausgenommen das tertiäre Amid (XXI), das vagotrop und muskulotrop stärker wirksam ist.

5. Ketone.

a) Analgesie.

Das Optimum scheint hier bei der n-Propylverbindung (XXVII) zu liegen. Das Phenylketon (XXXIII) ist wirkungslos. Für den Einfluß der N-Substitution im Piperidin gilt dasselbe wie bei den Estern.

b) Spasmolyse.

Für die vagotrope Wirkung liegt das Optimum beim Phenylketon (XXXI). Die muskulotrope Wirkung nimmt im allgemeinen mit der Verlängerung der Seitenkette zu.

6. Carbinole.

Das Methylphenylcarbinol (XLI) ist schwach analgetisch wirksam, seine vagotrope Wirkung ist wesentlich, die muskulotrope Wirkung etwas stärker als die des Dolantin.

Bezüglich des Zusammenhangs zwischen Konstitution und Wirkung auf das Atemzentrum ergab sich, daß ein enger Parallelismus zwischen analgetischer Wirkung und Herabsetzung des Atemvolumens besteht.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Spasmolyse.

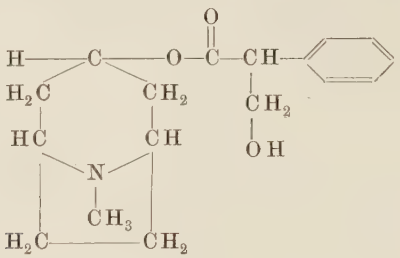
Atropin und Cocain sind außerordentlich nahe miteinander verwandte Verbindungen. Vergleicht man die Formel des Atropins mit derjenigen des ebenfalls in der Natur vorkommenden Tropacocains, so sieht man, daß der einzige Unterschied in der zwischen Estergruppe und Phenylkern eingeschobenen Oxäthylgruppe besteht. Es ist daher nicht überraschend, daß man durch analoge Abwandlungen, wie man sie in der Reihe der Lokalanästhetica mit Erfolg angewandt hat, auch beim Atropinmolekül zu Verbindungen gelangt, die noch Atropin-ähnliche Eigenschaften zeigen.

Beim Cocain hat man zunächst den Weg eingeschlagen, den basischen Rest umzuwandeln und zu vereinfachen. Auch beim Atropin hat man diese Richtung verfolgt und das Tropin durch einfach gebaute Alkamine ersetzt. Man hat dadurch erwartetermaßen spasmolytisch wirksame Verbindungen erhalten. Über derartige Verbindungen hat Fromherz[16] in einer grundlegenden Arbeit berichtet.

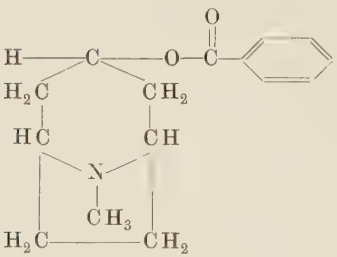
Demgegenüber zeigen die Verbindungen der vorliegenden Arbeit eine wesentliche Abweichung in ihrer Struktur; sie enthalten die basische Gruppe nicht wie das Atropin als Alkamin (Tropin), sondern im Säureanteil (4-Phenyl-piperidin-4-carbonsäure). In der Reihe der synthetischen Lokalanästhetica ist die Alkaminesterstruktur der Naturstoffe vorherrschend, doch ist auch hier schon die Verlegung der basischen Gruppe in den Säureanteil mit Erfolg vorgenommen worden (so z. B. in der Anästhesin-Gruppe oder bei den Verbindungen des D. R. P. 631855). Die Möglichkeit einer spasmolytischen Wirksamkeit war daher für die 4-Phenylpiperidinderivate nicht von vornherein auszuschließen. Wie die vorstehenden Versuchsergebnisse erweisen, ist diese Wirksamkeit tatsächlich

[16] Fromherz, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 86 (1933).

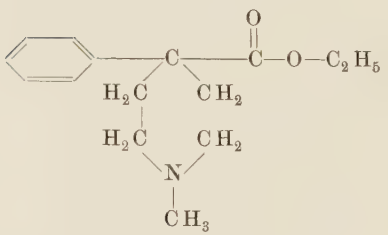
in bemerkenswertem Maße vorhanden. Zwar nimmt die vagotrope Wirkung im Vergleich zum Atropin beträchtlich ab, dafür tritt aber eine nicht unbeträchtliche muskulotrope Wirkung auf, ganz analog wie dies schon Fromherz für die von ihm beschriebenen Verbindungen beobachtet hat. Auch die Beobachtung dieses Autors, daß am Darm der Antagonismus gegen vaguserregende Substanzen scheinbar stärker ist als an anderen



Atropin



Tropa-Cocain



Dolantin

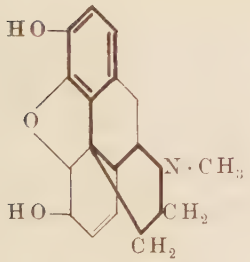
Objekten, z. B. dem Blutdruck, kann bei den neuen Verbindungen gemacht werden. Wie schon Fromherz vermutet hat, ist dies wohl darauf zurückzuführen, daß am Darm infolge der gleichzeitigen muskulotropen Wirkung ein Kombinationseffekt zur Auswirkung kommt. So dürfte auch die schon von Fromherz gemachte Beobachtung zu erklären sein, daß an solchen Darmstücken, die besonders atropinempfindlich sind, das Wirkungsverhältnis zwischen dem spezifisch vagotropen Atropin und solchen gemischt neuromuskulotropen Verbindungen mehr zugunsten des Atropins ausschlägt, als an solchen Darmstücken, bei denen bereits vom Atropin

allein größere Dosen gebraucht werden, da hier infolge der absolut größeren Dosierung dann der muskulotrope Anteil mehr ins Gewicht fällt.

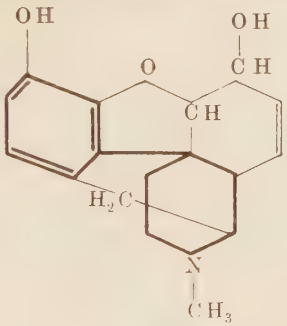
Bezüglich der Zusammenhänge zwischen Konstitution und Wirkung innerhalb der neuen Verbindungsreihe sei im einzelnen auf den betreffenden vorhergehenden Abschnitt verwiesen. Hier möge nur erwähnt werden, daß ebenso wie bei den Lokalanästhetica auch hier Ketone, Amide und auch Carbinole, die sich vom Grundtyp ableiten, noch wirksam sind. Ebenso wie dies Fromherz bei seinen Verbindungen beobachtet hat, steigt bei den quaternären Basen der neurotrope Anteil der Wirkung auf Kosten des muskulotropen an.

Analgesie.

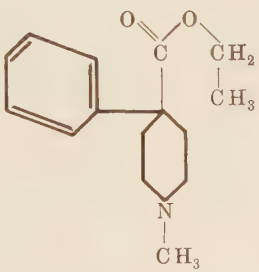
Wesentlich größere theoretische und praktische Bedeutung als der von vornherein zu erwartenden spasmolytischen Wirksamkeit kommt der



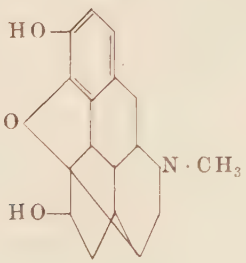
I.



II.



III.



IV.

Entdeckung zu, daß in der neuen Körperklasse Verbindungsreihen vorhanden sind, die eine spezifische zentrale analgetische Wirkung ausüben, die qualitativ derjenigen des Morphins sehr ähnlich ist und auch quantitativ nahe an sie heranreicht. Wegweisend für die Auffindung dieser Wirkung war die Beobachtung der eigentümlichen Schwanzhaltung bei Mäusen anläßlich der Toxizitätsbestimmung. Wenn diese auch für Morphin nicht streng spezifisch ist, so gab sie doch Anlaß, die Tiere auf das Vorhandensein

einer Analgesie zu prüfen. Tatsächlich ergab sich die überraschende Feststellung einer starken analgetischen Wirksamkeit, die sich dann auch mit anderen Prüfungsmethoden nachweisen ließ und in der klinischen Erfahrung ihre Bestätigung gefunden hat.

Bemerkenswert ist dabei, daß zum Unterschied von Morphin eine allgemein narkotische Wirkung vollkommen in den Hintergrund tritt, daß im Gegenteil eine zentrale Erregung vorherrscht, die sich bei toxischen Dosen bis zu Krämpfen steigern kann. In dieser Hinsicht besteht eine gewisse Ähnlichkeit mit den Analgetica der Pyrazolonreihe, bei denen allerdings zum Unterschied von den vorliegenden Verbindungen die analgetisch wirksame Dosis im Tierversuch sehr nahe bei der toxischen Dosis liegt.

Mit dem Morphin und seinen Derivaten haben die analgetisch wirksamen Verbindungen der neuen Körperklasse die beruhigende Wirkung auf das Atemzentrum und damit wohl auch den Antagonismus gegen den Hustenreflex gemeinsam.

Waren somit die Analogien im Wirkungsbild mit dem der Morphingruppe recht eindrucksvoll, so blieb es zunächst unverständlich und überraschend, daß zwei konstitutionell anscheinend so verschiedene Körperklassen sich pharmakodynamisch so ähnlich sind. Eine Erklärung hierfür gibt der Vergleich der Strukturformeln des Morphins und Dolantins. Bei genauer Betrachtung findet man nämlich in der Morphinformel das dem Dolantin zugrunde liegende Gerüst des 1-Methyl-4-phenyl-piperidin wieder.

In der beifolgenden Morphinformel (I) nach Gulland und Robinson[17] ist dieses Gerüst durch Hervorhebung der betreffenden Bindungen kenntlich gemacht. Deutlicher wird dieser Zusammenhang jedoch, wenn man diese Schreibweise etwas umformt (II). Die konstitutionelle Verwandtschaft mit dem Dolantin (III) ist dann auf den ersten Blick zu erkennen.

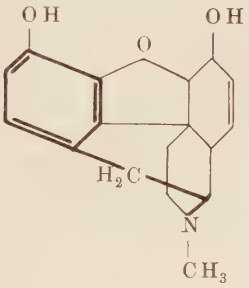
Die pharmakologische Ähnlichkeit des Morphins mit Derivaten des 1-Methyl-4-phenyl-piperidins liefert auch von dieser Seite aus eine Stütze für die neuere, chemisch durch C. Schöpf[18] bewiesene Morphinformel von Gulland und Robinson gegenüber der früher aufgestellten Formel von Freund und Speyer[19] (IV), aus der dieses Grundgerüst nicht herauszuschälen ist.

Aus dem Voranstehenden ergibt sich also, daß das hydrierte Phenanthren-Ringsystem für die analgetische Wirkung des Morphins nebensächlich ist; es wird sich daher empfehlen, das Morphin weniger als „Phenanthren"-Derivat, sondern eher als Abkömmling des 4-Phenylpiperidins anzusehen.

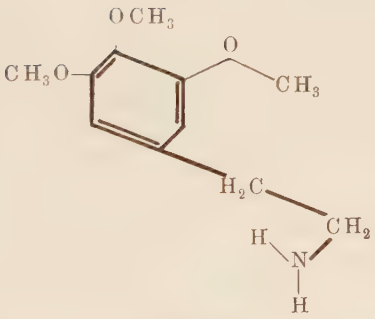
Es bleibt noch die Frage zu erörtern, warum der neuen Körperklasse die narkotischen, rauscherregenden Eigenschaften des Morphins fehlen. Man könnte dies vielleicht darauf zurückführen, daß bei den neuen Ver-

[17] Gulland u. Robinson: C. **1924**, I, S. 50. — [18] Schöpf, C.: Liebigs Ann. **452**, 211. — [19] Freund u. Speyer: Ber. Dtsch. Chem. Ges. **49**, 1287 (1916).

bindungen die Methylenbrücke, die beim Morphin zusätzlich zwischen Phenylkern und Piperidinring eingeschaltet ist, nicht vorhanden ist. Durch diese Brücke wird das Morphin nämlich gleichzeitig zu einem Derivat des Phenyläthylamins und tritt hierdurch zu einer Reihe von Rauschgiften in Beziehung, als deren einfachster Vertreter das Mezkalin (2-3-4-trimethoxyphenyl-äthylamin) angesehen werden kann. Von anderen Naturstoffen, in denen diese Gruppierung zu finden ist, seien noch Bulbokapnin, Laudanosin und Narkotin genannt.



Morphin



Mezkalin

Infolge des Fehlens dieser narkotischen rauscherregenden Wirkung, durch die sich das Dolantin und seine analgetisch wirksamen Abkömmlinge von den Opiumkaloiden abgrenzen, wird therapeutisch in denjenigen Indikationen, bei denen Morphin und seine Derivate hauptsächlich ihre Wirkung als Narkotica entfalten sollen, seine Anwendung an Stelle von Morphin erfolglos sein.

Zusammenfassung.

Es werden die pharmakologischen Eigenschaften einer neuen sich von 4-Phenyl-piperidin ableitenden Körperklasse beschrieben. Diese Verbindungen besitzen:

1. eine komplexe muskulo-neurotrope spasmolytische Wirksamkeit auf die glatte Muskulatur;

2. eine zentral analgetische Wirkung von morphinähnlichem Charakter, wobei die narkotische Komponente der Morphinwirkung in den Hintergrund tritt.

Es werden einige Zusammenhänge zwischen Konstitution und Wirkung in der neuen Körperklasse besprochen.

Vergleichende Betrachtung von Wirkungsbild und chemischer Konstitution des Morphins einerseits und den neuen Verbindungen andererseits führt zu dem Schluß, daß die zentral analgetische Wirkung des Morphins an die in diesem enthaltene 1-Methyl-4-phenyl-piperidin-Gruppe geknüpft ist, dagegen nicht an die hydrierten Ringsysteme des Phenanthrens oder Isochinolins.

Das Morphin ist daher nicht als Phenanthren- oder Isochinolinderivat, sondern als Abkömmling des 4-Phenyl-piperidins anzusehen.

Es wird die Vermutung geäußert, daß die den neuen Verbindungen fehlende narkotische Wirkung des Morphins an die in diesem und anderen Rauschgiften enthaltene Gruppierung eines substituierten Phenyläthylamins geknüpft ist.

Aus der Medizinischen Universitätspoliklinik Breslau.
(Leiter: Prof. Dr. A. Bittorf.)

Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens.

II. Experimentelle Untersuchungen. Der Einfluß der Digitalisgruppe auf den Kohlehydratgehalt des Herzens.

Von

Hans Liebig.

(Eingegangen am 30. Juli 1940.)

Die Beeinflussung des Herzens durch die Digitalis ist nur eine Teilerscheinung einer allgemeinen Einwirkung auf das gesamte vegetative System, soweit es sich am Herzen um eine Vaguswirkung handelt. Daneben greift die Digitalis bekanntlich direkt am Herzmuskel an und führt beim insuffizienten menschlichen Herzen zu einer Vergrößerung des Schlagvolumens und damit zu einer Vermehrung der diastolischen Füllung, zu einer erschwerten Überleitung vom Vorhof zur Kammer und zu einer Steigerung der Erregbarkeit des Herzmuskels. Bei den engen Beziehungen der Digitaliskörper zum vegetativen Nervensystem liegt von vornherein die Vermutung nahe, daß sie möglicherweise auch den Kohlehydratstoffwechsel beeinflussen, von dem wir ja wissen, wie weitgehend er von der übergeordneten nervösen Regulation abhängig ist. Zwei Fragestellungen sind zu beantworten, einmal die Frage, ob die Digitalisgruppe eine Wirkung auf die Herzkohlehydrate ausübt, und wenn das der Fall ist, ob die Kohlehydrate des Herzens sich anders verhalten als die des Skeletmuskels, und zweitens, ob die Digitaliswirkung vielleicht teilweise durch eine direkte oder indirekte Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels des Herzens zu erklären ist.

Die einschlägigen Literaturangaben sind nur spärlich. Haendel und Munilla[1] prüften unter gleichzeitiger Bestimmung des Leber- und Skeletmuskelglykogens sowie des Blutzuckers beim Hund unter anderem den Einfluß des Digalens auf das Herzmuskelglykogen. Es verminderte sich nach Digaleninjektionen, während der Glykogenvorrat von Leber und Skeletmuskel nicht angegriffen wurde. D'Allessandria[2] fand histochemisch nach Digitalisgaben beim Kaninchen eine Vermehrung des Glykogens in den Bündelfasern. Im chronischen Strophanthinversuch — Meerschweinchen erhielten 6 Tage lang je 0.0017 mg Strophanthin

[1] Haendel u. Munilla: Biochem. Z. **212**, 35 (1929). — [2] d'Allessandria: Fol. med. Napoli **18**, 1399 (1932).

pro 100 g Körpergewicht subcutan — konnten Lasch und Triger[3] bei der überwiegenden Mehrzahl der Tiere eine deutliche, teilweise sogar beträchtliche Steigerung des Gesamtkohlehydratgehalts im Herzmuskel und in der Leber erzielen. Liebig[4] stellte in früheren Versuchen nach intravenöser Digaleninjektion im Kaninchenherzen einen Glykogenschwund und eine Zwischenkohlehydratanreicherung fest. Die Verminderung des Glykogens im Skeletmuskel war jedoch erheblich größer als im Herzen.

Eigene Untersuchungen.

Die Untersuchungen wurden in der gleichen Weise durchgeführt, wie es in der vorhergehenden Arbeit geschildert wurde[5]. Auch das methodische Vorgehen war das gleiche. Als Versuchstier wurde wiederum das Kaninchen gewählt. Die Digitalis wurde in der Form von Digalen und Digipurat intravenös injiziert, das Strophanthin, auf dessen intravenöse Verabfolgung das Kaninchen meist mit einer schweren Störung der Herztätigkeit reagiert, wurde subcutan einverleibt. Zwischenfälle sind bei der gewählten Dosierung und bei der beschriebenen Art der Injektion nur beim Digipurat aufgetreten, während Digalen und Strophanthin anstandslos vertragen wurden.

Die in den Tabellen benutzten Abkürzungen entsprechen denen in den früheren Veröffentlichungen. Es bedeutet GKH Gesamtkohlehydrate, Zw.KH Zwischenkohlehydrate und ber. KH-Bestand berechneter Kohlehydratbestand. Der berechnete Kohlehydratbestand wurde, entsprechend dem früheren Vorgehen, durch Addition der auf den äquivalenten Traubenzuckerwert umgerechneten Milchsäuremenge zu den Gesamtkohlehydraten gewonnen.

Ergebnisse.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind aus den folgenden Tabellen zu ersehen. Zum Vergleich sind ihnen zunächst die Mittelwerte der Normaltiere aus der vorhergehenden Arbeit vorangestellt (Tabelle 1).

Sämtliche Tiere der ersten Untersuchungsreihe (Tabelle 2) erhielten 0,2 g Digitalis intravenös, und zwar 7 als Digalen und 3 als Digipurat. Die Injektion wurde möglichst langsam vorgenommen. Das Digalen wurde von allen Tieren ohne Störung gut vertragen, nur Tier Nr. 28 krampfte vorübergehend etwas. Bei den mit Digipurat behandelten Kaninchen dagegen stellte sich nach 45–60 Minuten eine Verlangsamung und bei Kaninchen Nr. 216 auch eine Unregelmäßigkeit der Herzschlagfolge ein. Die Tiere wurden 45—120 Minuten nach der Verabfolgung des Mittels getötet. Bei den 7 letzten Versuchen erfolgte die Tötung unter der Kontrolle des Blutzuckers. Während es bei den mit Digipurat gespritzten Tieren gelang,

[3] Lasch u. Triger: Z. exper. Med. **88**, 588 (1933). — [4] Liebig: Habilitationsschrift, Breslau 1933. [5] Liebig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 617 (1940).

Tabelle 1. Mittelwerte der Normaltiere.

Tierzahl	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trockengewicht g%	Blutzucker g%
16	Herz	0,387	1,506	1,125	0,199	1,605	20,7	
	Muskel	0,344	1,538	1,211	0,220	1,648	21,3	0,139
	Leber	5,095	6,808	1,713	0,089	6,852	27,9	

Tabelle 2. Digalen und Digipurat.

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trocken-gewicht g%	Blutzucker g%	Versuchsanordnung
1	28	Herz	0,184	1,400	1,216	0,129	1,464	21,4	—	12^{30} h 0,2 Digalen i. v.,
		Muskel	0,103	1,325	1,222	0,053	1,351	20,2	—	13^{45} h nach 75 Min. †
2	38	Herz	0,429	1,662	1,233	0,173	1,748	20,8	—	10^{45} h 0,2 Digalen i. v.,
		Muskel	0,172	1,401	1,229	0,196	1,499	22,8	—	12^{30} h nach 105 Min. †
3	39	Herz	0,332	1,462	1,130	0,106	1,515	20,1	—	10^{50} h 0,2 Digalen i. v.,
		Muskel	0,141	1,147	1,006	0,211	1,252	20,8	—	12^{45} h nach 115 Min. †
4	204	Herz	0,389	1,551	1,162	0,242	1,672	18,7	11^{40} h 0,153	11^{45} h 0,2 Digalen i. v.,
		Muskel	0,225	1,541	1,316	0,423	1,752	16,1	12^{40} h 0,152	13^{45} h nach 120 Min. †
		Leber	2,260	3,440	1,180	0,014	3,447	20,9	13^{40} h 0,129	
5	209	Herz	0,251	1,408	1,157	0,215	1,515	21,8	8^{45} h 0,115	8^{50} h 0,2 Digalen i. v.,
		Muskel	0,309	1,458	1,149	0,144	1,530	22,5	9^{20} h 0,175	10^{30} h nach 100 Min. †
		Leber	3,024	6,125	3,101	0,342	6,296	27,9	10^{20} h 0,120	
6	211	Herz	0,375	1,785	1,410	0,185	1,877	20,0	10^{00} h 0,140	10^{05} h 0,2 Digalen i. v.,
		Muskel	0,311	1,614	1,303	0,388	1,808	22,3	10^{35} h 0,170	11^{05} h nach 60 Min. †
		Leber	3,790	7,775	3,985	0,041	7,795	25,2	11^{05} h 0,130	
7	215	Herz	0,276	1,592	1,316	0,084	1,634	18,4	10^{15} h 0,144	10^{20} h 0,2 Digalen i. v.,
		Muskel	0,218	1,430	1,212	0,286	1,573	21,3	10^{50} h 0,244	11^{05} h nach 45 Min. †
		Leber	1,195	2,796	1,601	0,038	2,815	25,2	11^{00} h 0,188	

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trocken-gewicht g%	Blutzucker g%	Versuchsanordnung
8	210	Herz	0,175	1,282	1,107	0,250	1,407	19,2	8^{55} h 0,115	9^{00} h 0,2 Digipurat i.v.,
		Muskel	0,247	1,427	1,180	0,108	1,481	21,8	9^{30} h 0,151	10^{15} h nach 75 Min. †
		Leber	2,190	4,800	2,610	0,323	4,961	24,1	10^{15} h 0,180	
9	213	Herz	0,392	1,652	1,260	0,339	1,821	21,6	9^{50} h 0,159	9^{55} h 0,2 Digipurat i.v.,
		Muskel	0,244	1,368	1,124	0,064	1,400	23,7	10^{25} h 0,164	10^{55} h nach 60 Min. †
		Leber	2,980	4,465	1,485	0,078	4,504	29,1	10^{55} h 0,184	
10	216	Herz	0,393	1,522	1,129	0,200	1,622	21,2	9^{55} h 0,094	10^{00} h 0,2 Digipurat i.v.,
		Muskel	0,366	1,784	1,418	0,120	1,844	23,5	10^{30} h 0,234	10^{50} h nach 50 Min. †
		Leber	0,440	2,740	2,300	0,134	2,807	29,1	10^{50} h 0,240	
Mittelwert		Herz	0,320	1,532	1,212	0,192	1,627	20,3		
		Muskel	0,234	1,449	1,216	0,199	1,549	21,5		
		Leber	2,268	4,592	2,323	0,139	4,661	25,9		

den Zeitpunkt der Tötung so zu wählen, daß er mit dem vermutlichen Gipfelpunkt der Blutzuckerkurve zusammenfiel, war bei den 4 mit Digalen behandelten Kaninchen, bei denen Blutzuckerbestimmungen ausgeführt wurden, der Blutzuckerspiegel entweder bereits wieder abgefallen, als das Ergebnis der zweiten Blutzuckeruntersuchung bekannt war, und die Tiere sofort danach getötet wurden, oder der Anstieg war bei ihnen so gering, daß die Tötung in der Hoffnung, der Blutzuckerspiegel würde noch weiter steigen, hinausgeschoben wurde. Die Blutzuckerkurve zeigt nach Digalen einen erheblich schnelleren Ablauf als nach Digipurat. Eine eindeutige Abhängigkeit des Ausmaßes der Glykogenolyse von der Zeit, die zwischen Injektion und Tötung liegt, geht aus den einzelnen Versuchen nicht hervor. Es bestehen in dieser Beziehung erhebliche individuelle Unterschiede, und es ist daher kaum möglich, bei jedem Tier den günstigsten Zeitpunkt für die Tötung zu finden. Obwohl wegen dieser verschiedenen Schwierigkeiten, die zu den durch die großen biologischen Schwankungen, die wir schon bei den Normaltieren kennen lernten, bedingten Schwierigkeiten noch hinzukommen, die Einzelversuche zum Teil erhebliche Abweichungen aufweisen, sind die aus der ganzen Untersuchungsserie gewonnenen Mittelwerte doch recht aufschlußreich. Sie zeigen zunächst einen deutlichen Gly-

kogenschwund im Herzen gegenüber den Normaltieren, der 17% beträgt. Das Skeletmuskelglykogen ist dagegen gegenüber dem Normalwert um 32% gesunken. Der berechnete Kohlehydratbestand im Herzen entspricht der normalen Durchschnittszahl, der des Skeletmuskels hingegen liegt deutlich unter der Norm. Der Glykogenschwund im Herzen ist demnach ausschließlich, der im Skeletmuskel in der Hauptsache durch eine Verschiebung innerhalb des Kohlehydratdepots bedingt, und nur bei letzterem spielt zum Teil auch ein absoluter Kohlehydratverlust mit. Entsprechend sind die Zwischenkohlehydrate im Herzmuskel angereichert, im Skeletmuskel unverändert. Im einzelnen finden sich weder im Myocard noch im Skeletmuskel eines normalen Tieres so niedrige Glykogenwerte wie bei manchen mit Digitalispräparaten behandelten Tieren. Die Durchschnittswerte des Leberglykogens und der gesamten Leberkohlehydrate sind gegenüber der Norm erheblich herabgesetzt.

In einer folgenden Untersuchungsreihe (Tabelle 3) wurde die Wirkung des Strophanthins auf den Kohlehydratstoffwechsel untersucht. Das Strophanthin wurde in Dosen von 0,05—0,15 mg pro kg subcutan injiziert.

In den ersten 4 Versuchen der Strophanthinreihe wurde das Tier 60 Minuten nach Verabfolgung des Strophanthins getötet, in einem 5. erst nach 185 Minuten, um festzustellen, ob die schwere Veränderung des Kohlehydratstoffwechsels nach längerer Zeit wieder abklingt. Mit Rücksicht auf den großen zeitlichen Unterschied zwischen Injektion und Tötung bei den ersten 4 Versuchen und dem 5. Versuch wurden sowohl die Durchschnittswerte aus den 4 ersten Versuchen wie aus allen 5 Versuchen berechnet. Auffallend ist, daß das Strophanthin im Gegensatz zu den Digitalispräparaten — Versuch Nr. 4 aus der Digitalisserie kann zum Vergleich nicht herangezogen werden, weil die zweite Blutzuckerbestimmung erst nach einer Stunde erfolgte, nach der erfahrungsgemäß der Blutzuckeranstieg nach Digalengabe schon wieder abgeklungen war — in der Mehrzahl der Versuche zu keinem oder doch nur zu einem unwesentlichen Blutzuckeranstieg führt. Die Ursache für diese Tatsache kann mit Rücksicht auf die starke Reaktion des Kohlehydrathaushalts auf das Strophanthin kaum darin gesucht werden, daß die Digitalispräparate intravenös, das Strophanthin aber subcutan einverleibt wurde. Bei 3 von den 4 kurzfristigen Versuchen ist übereinstimmend ein starker Rückgang des Herzglykogens bei gleichzeitiger deutlicher Vermehrung des Skeletmuskelglykogens zu beobachten. Auch der berechnete Kohlehydratgehalt des Herzmuskels ist bei diesen 3 Versuchen so stark herabgesetzt wie bei keinem einzigen Normaltier, während der Kohlehydratverlust des Skeletmuskels prozentual erheblich geringer ist. Die Leberkohlehydrate entsprechen bei diesen 3 Tieren etwa den Normalwerten. Die Milchsäurewerte zeigen hier wie bei der vorangehenden Versuchsserie ein recht unterschiedliches Verhalten. Bei dem 4. Tier aus der kurzfristigen Versuchsreihe fehlen eindeutige Veränderungen ohne ersichtlichen Grund. Sein

Tabelle 3. Strophanthin.

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trocken-gewicht g%	Blutzucker g%	Versuchsanordnung
1	222	Herz	0,159	0,990	0,831	0,079	1,029	25,9	9^{55}h 0,125	10^{00}h 0,05 mg Str. pro
		Muskel	0,409	1,407	0,998	0,083	1,448	24,7	10^{30}h 0,125	kg subc., 11^{00}h nach
		Leber	2,970	4,820	1,850	0,057	4,848	31,2	11^{00}h 0,129	60 Min. †
2	223	Herz	0,350	1,522	1,172	0,343	1,693	20,9	9^{35}h 0,110	9^{40} h 0,1 mg Str. pro kg
		Muskel	0,311	1,327	1,016	0,229	1,441	20,9	10^{10}h 0,110	subcutan, 10^{40}h nach
		Leber	10,325	12,330	2,005	0,078	12,369	29,8	10^{40}h 0,115	60 Min. †
3	224	Herz	0,192	1,053	0,861	0,271	1,188	24,8	10^{10}h 0,086	10^{15}h 0,15 mg Str. pro
		Muskel	0,398	1,234	0,836	0,239	1,353	26,1	10^{45}h 0,114	kg subcutan, 11^{15}h n.
		Leber	2,515	5,120	2,605	0,097	5,168	29,3	11^{15}h 0,112	60 Min. †
4	225	Herz	0,142	1,180	1,038	0,126	1,243	24,4	9^{00}h 0,134	9^{05}h 0,1 mg Str. pro kg
		Muskel	0,488	1,544	1,056	0,071	1,579	24,4	9^{35}h 0,152	subcutan, 10^{05}h nach
		Leber	2,140	5,050	2,910	0,086	5,093	28,9	10^{05}h 0,134	60 Min. †
5	96	Herz	0,323	0,874	0,551	0,064	0,906	18,0	8^{55}h 0,110	9^{00}h 0,15 mg Str. pro kg
		Muskel	0,244	1,219	0,975	0,217	1,327	22,7	9^{30}h 0,127	subcutan, 12^{05}h nach
		Leber	1,965	2,740	0,775	0,054	2,767	28,0	10^{30}h 0,132	185 Min. †
									11^{30}h 0,125	
Mittelwerte Tier 1–4		Herz	0,211	1,186	0,975	0,205	1,288	24,0		
		Muskel	0,401	1,378	0,977	0,155	1,455	24,0		
		Leber	4,487	6,830	2,343	0,079	6,869	29,8		
Mittelwerte Tier 1—5		Herz	0,233	1,124	0,891	0,177	1,212	22,8		
		Muskel	0,370	1,346	0,976	0,168	1,430	23,8		
		Leber	3,983	6,012	2,029	0,074	6,049	29,4		

Tabelle 4. Strophanthin und Traubenzucker.

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.-KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trocken-gewicht g%	Blutzucker g%	Versuchsanordnung
1	226	Herz	0,128	1,112	0,984	0,125	1,174	21,8	9^{00} h 0,120	9^{05} h 0,15 mg Str. pro
		Muskel	0,238	1,429	1,191	0,083	1,470	25,4	9^{35} h 0,280	kg subcutan + 20 ccm
		Leber	1,685	3,083	1,398	0,027	3,096	30,0	10^{05} h 0,220	25%ige Traubenz.-Lsg.
										i. v., 10^{05} h n. 60 Min. †
2	229	Herz	0,192	1,177	0,985	0,202	1,278	24,1	10^{00} h 0,090	10^{05} h Injektion wie
		Muskel	0,285	1,375	1,090	0,090	1,570	24,4	10^{30} h 0,120	oben, 11^{05} h n. 60 Min. †
		Leber	3,585	5,285	1,700	0,055	5,312	29,4	11^{05} h 0,138	
Mittelwert		Herz	0,160	1,144	0,984	0,163	1,225	22,9		
		Muskel	0,261	1,402	1,140	0,236	1,520	24,9		
		Leber	2,635	4,184	1,549	0,041	4,205	29,7		

Kohlehydratstoffwechsel verhält sich strophanthinrefraktär. Infolgedessen zeigen die Mittelwerte aus den 4 Versuchen die schweren Veränderungen weniger ausgeprägt als die 3 genannten Einzelversuche. Aber auch bei ihnen ist die Strophanthinwirkung trotzdem noch recht deutlich zu beobachten. So liegt der Durchschnittswert für das Herzglykogen um 45,5% unter, der für das Skeletmuskelglykogen aber um 16,6% über der Norm, und der berechnete Kohlehydratgehalt im Herzmuskel ist um 19,6%, im Skeletmuskel jedoch nur um 11,7% vermindert. Der Mittelwert des berechneten Kohlehydratgehalts der Leber entspricht infolge des großen Kohlehydratreichtums der Leber des Kaninchens Nr. 223 völlig der normalen Durchschnittszahl. Im langfristigen Strophanthinversuch, der allerdings nur einmal ausgeführt wurde, ist der Herzmuskel wieder erheblich glykogenreicher, während der Skeletmuskel im Gegensatz zu den kurzfristigen Versuchen glykogenverarmt erscheint. Der berechnete Kohlehydratgehalt verhält sich dagegen grundsätzlich ebenso wie bei den kurzfristigen Versuchen, ja er weist sogar im Herz- wie im Skeletmuskel noch niedrigere Werte auf, und die Leber ist von allen 5 Versuchen am kohlehydratärmsten. Ein Abklingen der Strophanthinwirkung ist nach 3 Stunden also nicht zu erkennen. Beachtenswert ist die erhebliche Vermehrung des durchschnittlichen Trockengewichtes, die in der Digitalisreihe nicht zu beobachten ist. Die Dosierung des Strophanthins ist für den Ausfall der Versuche insofern ohne Bedeutung, als bei allen gewählten Dosen übereinstimmende Resultate erzielt wurden.

In einer dritten Versuchsreihe (Tabelle 4) wurde die Einwirkung der gleichzeitigen Gabe von Strophanthin und Traubenzucker geprüft, um den Einfluß der in der Praxis viel gebrauchten Strophanthin-Traubenzuckermischspritze zu untersuchen. Das Strophanthin wurde wieder subcutan gegeben, während der Traubenzucker in Form einer 25%igen Lösung intravenös injiziert wurde.

Die Tiere wurden wie bei den kurzfristigen Strophanthinversuchen 60 Minuten nach der Injektion getötet. Im Gegensatz zu den nur mit Strophanthin gespritzten Tieren zeigt die Blutzuckerkurve einen sehr beträchtlichen Anstieg. Im übrigen bieten Einzel- wie Durchschnittswerte der beiden Versuche grundsätzlich das gleiche Bild wie die Strophanthinserie. Nur das Skeletmuskelglykogen macht insofern eine Ausnahme, als es gegenüber dem normalen Durchschnittswert vermindert ist. Die gleichzeitige Traubenzuckergabe ist also nicht imstande, den durch das Strophanthin bedingten Glykogen- und Kohlehydratschwund zu verhindern oder auszugleichen. Die Erklärung für diese Erscheinung geben die später mitzuteilenden Traubenzuckerversuche.

Besprechung der Ergebnisse.

Es wurden sowohl von den Digitalispräparaten wie vom Strophanthin bewußt hohe Dosen gegeben, um eine eindeutige Wirkung zu erzielen. Obwohl die pharmakologische Wirkung der Digitalis und des Strophanthins grundsätzlich die gleiche und der Angriffspunkt derselbe ist, lehren unsere Versuche, daß der Einfluß der Digitalis und des Strophanthins auf den Kohlehydratstoffwechsel ein recht verschiedener ist. Diese Verschiedenheit äußert sich zunächst in dem abweichenden Verhalten der Blutzuckerkurve, vor allem aber in der durchaus andersartigen Reaktion des Kohlehydrathaushalts. Das Herzglykogen ist der Digitaliswirkung gegenüber in der überwiegenden Mehrzahl der Versuche erheblich widerstandsfähiger als das Skeletmuskelglykogen, während wir beim Strophanthin das umgekehrte Verhalten beobachten. Die Digitalis greift das Kohlehydratdepot des Herzens in seiner Gesamtheit nicht an, führt dagegen eine deutliche Verringerung der Skeletmuskelkohlehydrate herbei. Nach Strophanthin findet sich dagegen in 80% aller Versuche und damit auch im Mittelwert ein gewaltiger Schwund der Herzkohlehydrate, während die Skeletmuskelkohlehydrate bedeutend weniger in Mitleidenschaft gezogen werden. Eine Erklärung für die so verschiedene Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels durch zwei in ihrer pharmakologischen Wirkung identische Mittel ist schwer zu geben. Die direkte Ursache der Digitalis- und Strophanthinwirkung auf den Kohlehydrathaushalt in einer durch diese Pharmaka ausgelösten Änderung der Herzfunktion zu suchen ist deswegen nicht angängig, weil eine solche außer bei den Digipuratversuchen nicht nachzuweisen war. Die Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels erfolgt

vielmehr zweifellos über seine nervöse Regulation. Auf die engen Beziehungen der Digitalisgruppe zum vegetativen Nervensystem und ihre allgemeine Wirkung auf dieses wurde eingangs bereits hingewiesen. Aus den Digitalisversuchen geht hervor, daß das Herz auch hier im Gegensatz zu Skeletmuskel und Leber mit Erfolg bestrebt ist, seinen Kohlehydratbesitz möglichst ungeschmälert zu erhalten und zu verteidigen. Dem Strophanthin gegenüber gelingt ihm das jedoch nicht. Die Literaturangaben über die Digitaliswirkung auf das Herzglykogen sind nicht einheitlich. Während d' Allessandria eine Vermehrung des Glykogens in den Bündelfasern angibt und daraus auf eine Begünstigung der Bildung einer Glykogenreserve im Herzen durch die Digitalis schließt, führt eine Digaleninjektion beim Hund nach Haendel und Munilla zu einem Schwund des Herzglykogens, wie auch wir ihn, wenn auch in geringem Umfang, nachweisen konnten. Dagegen stimmen unsere Resultate an Leber und Skeletmuskel mit den Mitteilungen der beiden letzten Autoren nicht überein. Unsere Strophanthinversuche sind mit den von Lasch und Triger ausgeführten deswegen nicht zu vergleichen, weil einmal die Dosierung eine zu verschiedene ist, und weil wir das Verhalten der Kohlehydrate im akuten Versuch prüften, während Lasch und Triger das Strophanthin protrahiert verabfolgten. Trotzdem sind die diametral entgegengesetzten Ergebnisse nicht ganz verständlich.

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Die Untersuchungen haben, kurz zusammengefaßt, folgendes ergeben:

1. Die intravenöse Injektion von 0,2 g Digitalis in Form von Digalen und Digipurat führt beim Kaninchen zu einem Anstieg des Blutzuckerspiegels, der bei den einzelnen Versuchen verschieden stark ausgeprägt ist, nach Digipurat aber länger bestehen bleibt als nach Digalen. Sie hat einen Glykogenschwund im Herz- und im Skeletmuskel im Gefolge, der im Mittel und in der überwiegenden Mehrzahl der Einzelversuche im Myocard erheblich weniger ausgesprochen ist als im Skeletmuskel. Der berechnete Kohlehydratbestand des Herzens bewegt sich im Einzelversuch wie im Mittel innerhalb normaler Grenzen, während er im Skeletmuskel etwas vermindert ist.

2. Nach subcutaner Injektion von Strophanthin in Dosen von 0,05 bis 0,15 mg pro kg Körpergewicht findet sich im kurzfristigen Versuch in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle ein Glykogenschwund im Herzen, während der Skeletmuskel Glykogen anreichert. In einem langfristigen Versuch sind Herz- und Skeletmuskelglykogen vermindert. Bei kurz- und langfristigen Versuchen ist ein gewaltiger Schwund der gesamten Herzkohlehydrate, ein geringerer der Skeletmuskelkohlehydrate zu beobachten. Der Blutzucker wird durch Strophanthin im allgemeinen überhaupt nicht oder höchstens nur unwesentlich beeinflußt. Gleichzeitige

Traubenzuckerinjektionen haben auf die Strophanthinwirkung nur insofern einen Einfluß, als sie auch im Skeletmuskel einen Glykogensturz herbeiführen.

3. Die Digitalisversuche zeigen wiederum eine Sonderstellung des Herzens, dem es im Gegensatz zum Skeletmuskel gelingt, seinen Kohlehydratbesitz im wesentlichen zu bewahren. Eine Sonderstellung nimmt es aber auch bei den Strophanthinversuchen gegenüber dem Skeletmuskel ein, wenn auch im umgekehrten Sinne.

Eine Theorie aufzustellen, die die Ergebnisse der vorstehenden Untersuchungen zu erklären vermag, ist schwierig. Die Veränderungen im Kohlehydratstoffwechsel unter Digitalis- und Strophanthineinfluß könnten einmal als der Ausdruck einer Schädigung, also einer Giftwirkung, angesehen werden. Versucht man aber, das Verhalten des Kohlehydrathaushalts vom Standpunkt der Zweckmäßigkeit aus zu betrachten, so könnte man bei den Digitalisversuchen die Einbuße an Skeletmuskelglykogen und Skeletmuskelkohlehydraten vielleicht als den Ausdruck einer Mobilisation dieser Kohlehydrate zugunsten des Herzens auffassen, das unter der Digitaliswirkung infolge der Vergrößerung des Schlagvolumens und der Erhöhung der diastolischen Füllung Mehrarbeit zu leisten hat und infolgedessen einer vermehrten Zufuhr von Nähr- und Energiematerial bedarf. Zweifellos hat diese Aufgabe in erster Linie die Leber zu erfüllen, indem sie einen Teil ihres Glykogenvorrats für diesen Zweck zur Verfügung stellt. Die Beurteilung des Verhaltens der Leber ist jedoch infolge der großen biologischen Schwankungen im Kohlehydratgehalt dieses Organs sehr schwer möglich. Immerhin gestattet bei den Digitalisversuchen die Verminderung der Leberkohlehydrate um etwa ein Drittel im Mittelwert die Vermutung, daß auch sie, wahrscheinlich sogar in erster Linie, zur Lieferung von Energiestoffen an das Herz mobilisiert werden. Obwohl die Strophanthinwirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel in gewisser Hinsicht der der Digitalispräparate entgegengesetzt ist, kann das Verhalten der Kohlehydrate vielleicht in ähnlicher Weise erklärt werden. Die Rolle der Leber muß hier freilich außer Betracht bleiben, weil der Durchschnittswert der Leberkohlehydrate infolge des großen Kohlehydratreichtums der Leber des einen Tieres etwa dem Normalwert entspricht und aus ihm daher eine Mobilisation des Leberglykogens nicht mit Sicherheit zu entnehmen ist, wenn sie auch zweifellos vermutet werden muß. Die außerordentlich starke Verminderung des Herzmuskelglykogens und der gesamten Herzkohlehydrate könnte bedingt sein durch den großen Energieverbrauch des Herzens, der ja infolge der viel intensiveren Strophanthinwirkung ein bedeutend größerer sein dürfte als nach Digitalispräparaten, und den das Herz vielleicht weitgehend aus seinen eigenen Kohlehydratdepots bestreiten muß. Der starke Kohlehydratverlust der Skeletmuskulatur läßt aber vermuten, daß auch ihre Kohlehydratdepots auf das intensivste bemüht sind, ihre

Bestände an das Herz abzugeben. Es bliebe jetzt nur noch übrig, eine Erklärung für die im Verhältnis zu den Digitalisversuchen auffallende Ansammlung von Glykogen in der Skeletmuskulatur zu suchen. Aber auch dafür ließe sich eine theoretische Deutung geben. Man könnte annehmen, daß sie der Ausdruck einer Neubildung von Glykogen als Ersatz für den starken Kohlehydratverlust ist, das der Skeletmuskel zunächst für die Abgabe nicht zur Verfügung stellt. Es ist selbstverständlich, daß dieser Erklärungsversuch eine reine Hypothese ist, für deren Richtigkeit ein Beweis nicht zu erbringen ist, weil uns vorläufig ein tieferer Einblick in die Stoffwechselvorgänge versagt ist.

Anmerkung: Die Arbeit wurde in einem Feldlazarett niedergeschrieben. Eine Korrektur der Literaturangaben war daher nicht möglich. Aus dem gleichen Grunde ist auch nur die Literatur bis 1938 einschließlich berücksichtigt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Methylenblau und Cholinesterase.

Von

Ed. Rentz.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. August 1940.)

Anläßlich von Versuchen über die Wirkung hyperthermisierender Mittel auf die Cholinesterase wurde u. a. auch das Methylenblau geprüft und festgestellt, daß dieser Farbstoff die Esterase so stark hemmt, wie das bisher von keiner anderen Substanz, mit Ausnahme des Physostigmins, bekannt ist. Obwohl sich zwischen der temperatursenkenden und der esterasehemmenden Wirkung des Methylenblaus keine eindeutige Beziehung ergab, schien es doch von Interesse, dieses Mittel und gleichzeitig auch einige andere Farbstoffe in ihrer Wirkung auf die Esterase eingehender zu studieren und mit derjenigen des Physostigmins zu vergleichen. Die Versuche wurden sowohl in vitro, als auch am ganzen Tier durchgeführt.

Modellversuche.

Außer dem Methylenblau prüfte man noch die Farbstoffe: Trypaflavin, Eosin, Trypanrot, Trypanblau, Neutralrot, Anilinrot, Benzoechtrot, Methylorange und Chicagoblau.

Methodik.

Wir bedienten uns der gasanalytischen manometrischen Methode von Ammon[1], wonach der Gehalt der Blutproben an Cholinesterase nach dem Prinzip der Warburg-Methode bestimmt wird. Zu diesem Zweck gab man in das Ansatzstück des Nicolai-Troges 1 ccm Eigenserum (zur Verhinderung der Blutgerinnung dienten 50 mg% Liquoid*) in der Verdünnung 1 bis 1,5 : 10 Krebs-Ringerlösung und dazu die Lösung der zu untersuchenden Substanz, gleichfalls in 1 ccm. In jeden Nicolai-Trog kamen 3 ccm einer mit Krebsringer hergestellten 0,5%igen Lösung von Azetylcholinchlorid-„Roche". Die Endkonzentration des Azetylcholins betrug demnach 0,3%, die Endkonzentration des Serums 2—3%. Während des Schüttelns im Wasserbade (37,4°) wurden Ferment und Substrat gemischt. Aus der durch Spaltung des Azetylcholins freiwerdenden Essigsäure tritt eine äquivalente Menge CO_2 aus, die am Ende der 30. und 60. Minute in ccm abgelesen und deren Wert in den Abbildungen graphisch dargestellt wurde. Die CO_2-Menge gilt als Maß für die Esterasekonzentration in dem untersuchten Blutserum. Die

[1] Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1933); vgl. auch die Arbeit von F. Zinnitz u. Ed. Rentz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 329 (1940).

* Wir danken der Firma Hoffmann-La Roche für die freundliche Überlassung des Liquoids.

Eigenhydrolyse des Azetylcholins betrug für die 60-Minutenwerte bis zu 30 ccm CO_2 und ist in der graphischen Darstellung von den jeweils erhaltenen Zahlen bereits abgezogen.

Wie aus Abb. 1 ersichtlich ist und durch wiederholte Versuche bestätigt werden konnte, wirkt Methylenblau, mit den obengenannten Konzentrationen von Ferment und Substrat zusammengebracht, auf die Esterase am stärksten von allen untersuchten Farbstoffen. Etwa gleich dem Physostigmin hemmt es die hydrolysierende Tätigkeit des Ferments fast vollständig schon in der Menge von nur 10 γ. Von den übrigen Farbstoffen kam dem Methylenblau das Trypaflavin am nächsten, welches die Bildung der Kohlensäure um etwa 50—70 % herabsetzt, und in noch weiterem Abstand folgt das Neutralrot mit einer Hemmung von etwa 17—30 %. Die restlichen Farbstoffe (Eosin, Chicagoblau, Benzoechtrot, Methylorange, Trypanblau, Trypanrot und Anilinrot) ließen in den angewandten geringen Dosen eine Einwirkung auf das Ferment kaum erkennen.

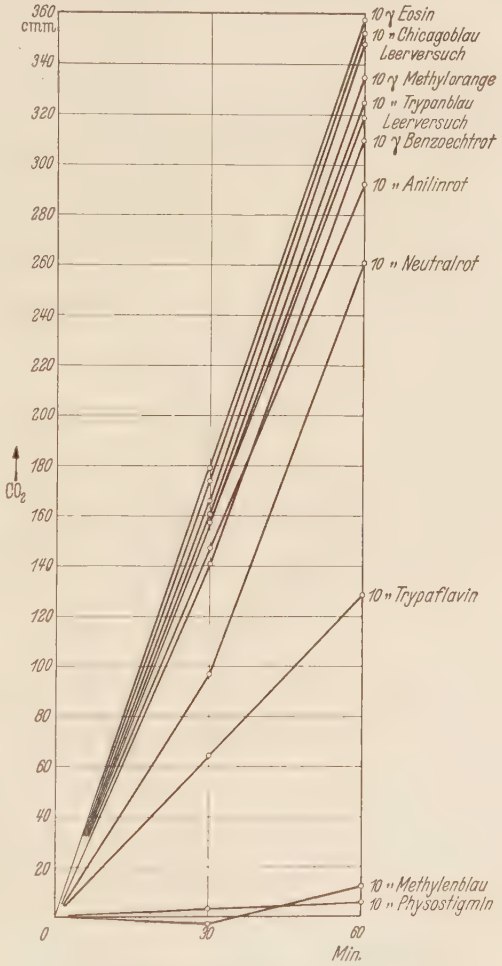


Abb. 1. Wirkung verschiedener Farbstoffe in den Dosen von 10 γ auf die Cholinesterase des Blutes (Eigenserum in der Verdünnung 3 : 20) im Vergleich zu den Ergebnissen zweier Leerversuche und zur Wirkung von 10 γ Physostigminsalicylat.

Zwecks genauerer Prüfung wurde das Methylenblau noch im Vergleich zum Physostigmin in den Dosen von 1, 10 und 100 γ angewandt (s. Abb. 2).

Aus Abb. 2 ist ersichtlich, daß das Methylenblau in der Dosis von 1 γ die Wirkung der Esterase im Mittel um 60 %, in der Dosis von 10 γ um 87 % und in der Dosis von 100 γ fast vollständig hemmt, während die entsprechenden Zahlen für das Physostigmin 81, 93 und 96 % betragen. Das Methylenblau wirkt demnach auf die Cholinesterase nur wenig schwächer

als das „spezifische Fermentgift" Physostigmin und steht somit nach unseren Untersuchungen diesem näher als irgendein anderer bisher bekanntgewordener Stoff.

Nach Abschluß unserer Versuche stießen wir in einer Arbeit von Raventós[2] über Synergismen und Antogonismen des Azetylcholins auf eine Beobachtung, aus der gleichfalls die hemmende Wirkung des Methylenblaus auf die Esterase hervorgeht. Raventós mischte Serum mit Methylenblau und gab Azetylcholin hinzu. Nach einer gewissen Zeit testierte er die Azetylcholinmenge an der Blutegelmuskulatur. Während das Kontrollserum in 1 Stunde $^9/_{10}$ des Azetylcholins zersetzt hatte, waren in derselben Zeit bei Gegenwart von Methylenblau nur $^2/_3$ davon zerstört.

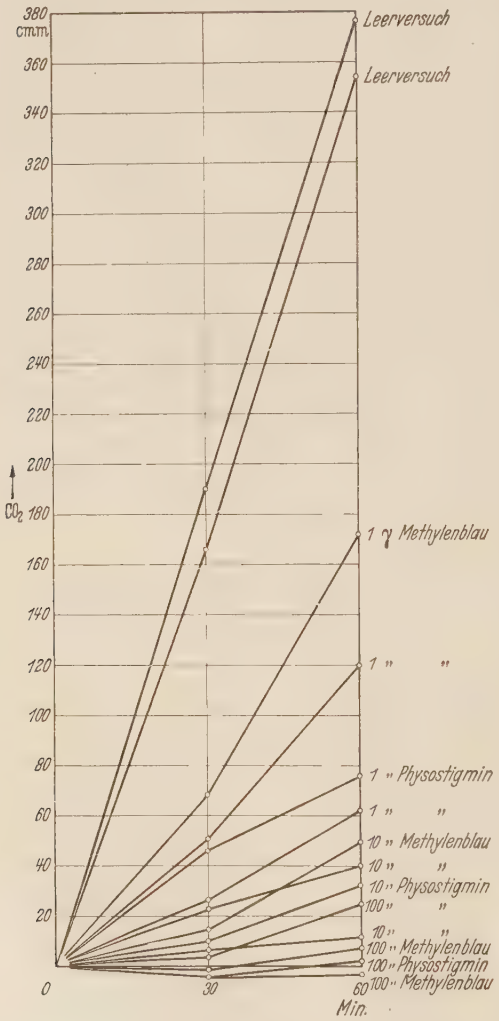


Abb. 2. Wirkung von Methylenblau in den Dosen 1, 10 und 100 γ (je 2 Versuche) auf die Cholinesterase des Blutes (Eigenserum in der Verdünnung 1 : 10) im Vergleich zur Wirkung entsprechender Mengen von Physostigminsalicylat. Oben die Ergebnisse zweier Leerversuche.

Versuche am ganzen Tier.

In den neueren Arbeiten über Azetylcholin und Vagusstoff wird vorausgesetzt, daß die fermentlähmende Wirkung des Physostigmins auch am lebenden Tier eintritt. Merkwürdigerweise scheint das aber bisher nur sehr selten experimentell geprüft worden zu sein. So findet man erstmalig bei Ammon und Voss[3] die Beschreibung eines Versuches mit einem 17 kg schweren Hunde, dem man 5 mg Physostigmin injiziert hatte. Vor und 20 Minuten nach der Injektion wurde eine Blutprobe entnommen und festgestellt, daß die Spaltung der Esterase tatsächlich um 53 % vermindert war. Im selben Jahr haben noch Jones und Tod[4] mit einer anderen Methode an 12 Geisteskranken gleichfalls

[2] Raventós, J.: Quart. J. exper. Physiol. **27**, 99 (1937/38). — [3] Ammon, R., u. G. Voss: Pflügers Arch. **235**, 393 (1935). — [4] Jones, M. S., u. H. Tod: Biochem. J. (Brit.) **29**, 2242 (1935).

gefunden, das die nach der Physostigmingabe entnommene Blutprobe weniger Esterase enthält als vorher. Da weitere Angaben in der Literatur nicht zu finden waren, haben wir neben dem Methylenblau und dem nächststarken Farbstoff Trypaflavin auch das Physostigmin eingehender untersucht und dabei jedesmal bis zu 15 Blutproben entnommen.

Methodik.

Da, wie schon Ammon und Voss[3] angeben und auch wir in einigen Versuchen bestätigen konnten, die Menge der Cholinesterase im Kaninchenblut nur gering und schwankend ist, so haben wir als Versuchstiere wieder Katzen benutzt, die sich als sehr geeignet erwiesen. Die Tiere waren mit 80 mg/kg Chloralose narkotisiert,

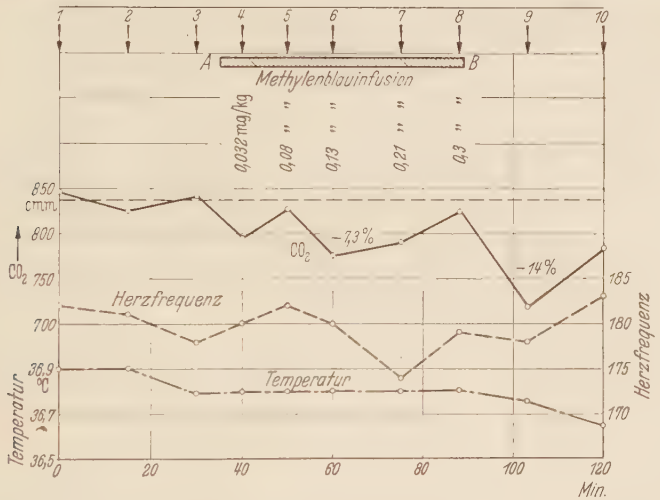


Abb. 3. Wirkung von Methylenblau auf die Cholinesterase des Blutes (60-Minutenwert) am ganzen Tier. Darunter Herzfrequenz und Körpertemperatur. Die mit Pfeilen versehenen Zahlen zeigen die einzelnen Blutentnahmen an. *A—B*: Dauer der Infusion mit den jeweils insgesamt infundierten Methylenblaumengen. Gewicht der Katze 3,1 kg.

welche den Esterasegehalt des Blutserums nicht beeinflußt. Die Infusion der zu untersuchenden Substanz wurde mit der Heuwing-Spritze[5] vorgenommen. Der eigentliche Versuch begann erst, wenn Herzfrequenz und Körpertemperatur, die vor jeder Blutentnahme gemessen wurden, einigermaßen konstant geworden waren. Das Blut entnahm man der Carotis. Es floß in spezielle, 1 ccm fassende Zentrifugiergläser, von denen jedes zwecks Verhinderung der Blutgerinnung 0,2 ccm einer 0,5 %igen Liquoidlösung enthielt, und wurde bald darauf zentrifugiert. Die weitere Behandlung des Serums erfolgte in der für die Modellversuche angegebenen Weise. Die Endkonzentration des Serums betrug hier etwa 7 %, die des Azetylcholins wieder 0,3 %. In den Abbildungen sind der besseren Übersichtlichkeit wegen nur die 60 Minutenwerte wiedergegeben.

Die aus einer größeren Reihe von Versuchen ausgewählten Abb. 3, 4 und 5 zeigen die Wirkung von Dauerinfusionen mit Methylenblau in verschiedener Konzentration und Menge. Das erste Tier (Abb. 3) erhielt

[5] Straub, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937).

(in 0,2 %iger Lösung) insgesamt 0,3 mg/kg in 1 ccm innerhalb von 54 Minuten. Der Erfolg war gering und die Menge der gebildeten Kohlensäure sank während der Infusion maximal um 7,3 %, um nach Beendigung der Einströmung vorübergehend noch weiter abzufallen (insgesamt um 14 %).

Das zweite Tier (Abb. 4) erhielt (in Form einer 0,39 %igen Lösung) innerhalb von 50 Minuten 10,1 mg/kg in 5 ccm intravenös. Die Wirkung war stärker als im ersten Falle und die Hemmung der Esterase betrug hier maximal 22 %.

Die stärkste Dosis erhielt das dritte Tier (Abb. 5), und zwar, in Form einer 2,25 %igen Lösung, insgesamt 109 mg/kg in 10,9 ccm innerhalb von

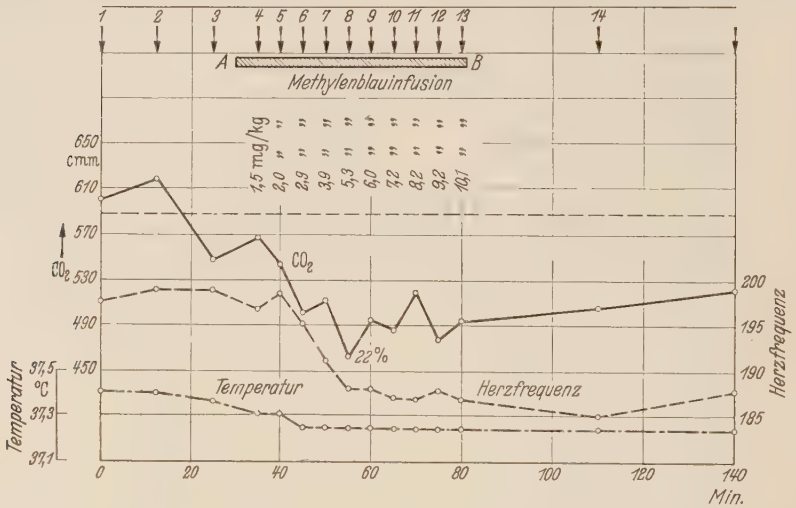


Abb. 4. Bedeutung der Kurven und Zahlen wie in Abb. 3. Gewicht der Katze 1,95 kg.

70 Minuten intravenös. In etwa 40 Minuten hatte sich die Menge der gebildeten Kohlensäure außerordentlich stark vermindert, und zwar um etwa 64 %, und blieb dann auf dieser Höhe, um nach Beschleunigung der Durchströmung (bei 9) weiter auf 87 % abzusinken, wonach in wenigen Minuten der Tod eintrat. Das nach dem Tode dem Herzen entnommene Blut enthielt etwas mehr Esterase als die letzte Lebendblutprobe.

Gemeinsam ist allen drei Versuchen, daß sich zu Beginn eine geringe Zunahme der Esterase zeigt und daß entsprechend auch die Herzfrequenz etwas zunimmt, um gleich darauf parallel mit der Esterasemenge abzunehmen. Bei gleichbleibender Infusion bleiben die Zahlen nach Erreichen eines maximalen Tiefstandes auf einer bestimmten Höhe, um sich nach Abschluß der Infusion noch weiter zu verringern bzw. sich wieder dem Ausgangswert zu nähern. Während die Herzfrequenz im wesentlichen dem Verlauf der Esterasekurve folgt, scheint die Körpertemperatur in keinem Zusammenhang damit zu stehen. Im Vergleich zu den Versuchen

in vitro sind demnach die minimalen eben wirksamen Methylenblaumengen am ganzen Tier (0,13 mg/kg, vgl. Abb. 3, Blutentnahme 6), pro 1 ccm Blut berechnet, annähernd gleich groß und betragen etwa 2—5 γ.

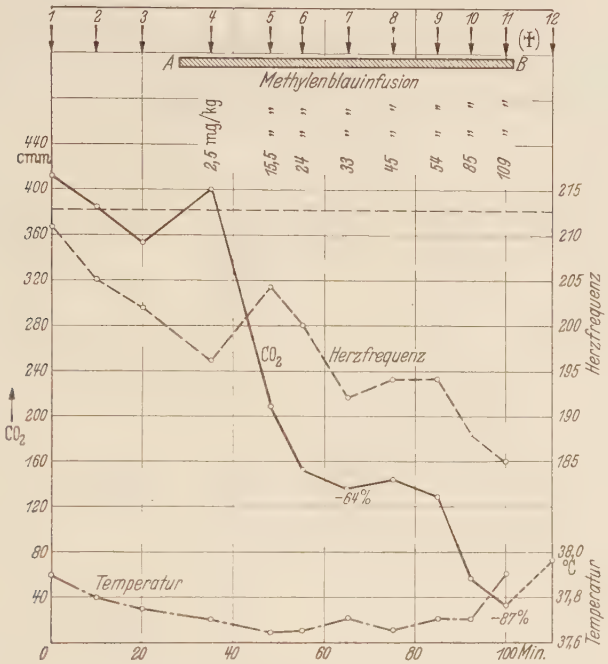


Abb. 5. Bedeutung der Kurven und Zahlen wie in Abb. 3. Gewicht der Katze 2,25 kg.

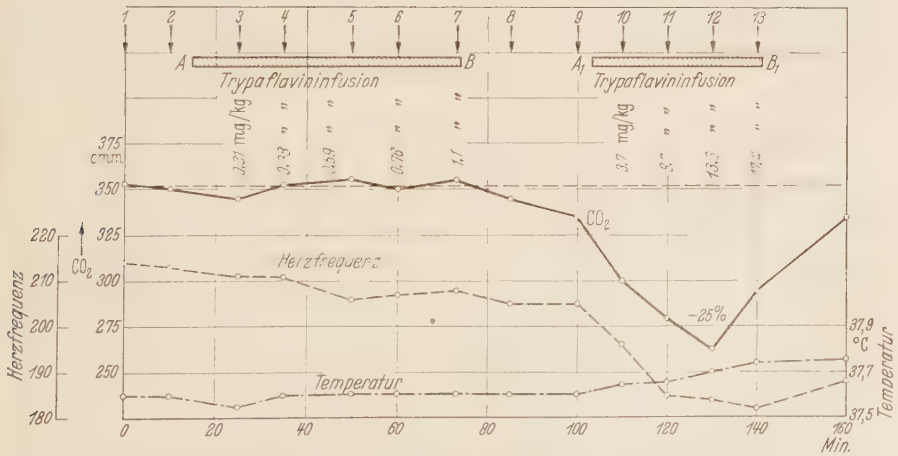


Abb. 6. Wirkung von Trypaflavin auf die Cholinesterase des Blutes (60-Minutenwert) am ganzen Tier. Darunter Herzfrequenz und Körpertemperatur. A—B: Dauer der langsamen, A_1—B_1: Dauer der raschen Infusion mit den jeweils insgesamt infundierten Trypaflavinmengen. Die mit Pfeilen versehenen Zahlen zeigen die einzelnen Blutentnahmen an. Gewicht der Katze 2,3 kg.

Von den übrigen Farbstoffen wurde am ganzen Tier nur das Trypaflavin untersucht, das in vitro dem Methylenblau am nächsten stand. Wie zu erwarten war, bewirkte dieser Farbstoff auch in vivo eine im Vergleich zum Methylenblau schwächere Esterasehemmung (Abb. 6).

1 mg Trypaflavin pro kg in 0,5 %iger Lösung, also in 0,5 ccm, innerhalb 1 Stunde intravenös verabfolgt, war wirkungslos, während bei rascherer Infusion derselben Lösung etwa 4 mg/kg schon recht deutlich hemmten und das Maximum (eine Senkung von etwa 25 %) bei 13 mg/kg erreicht

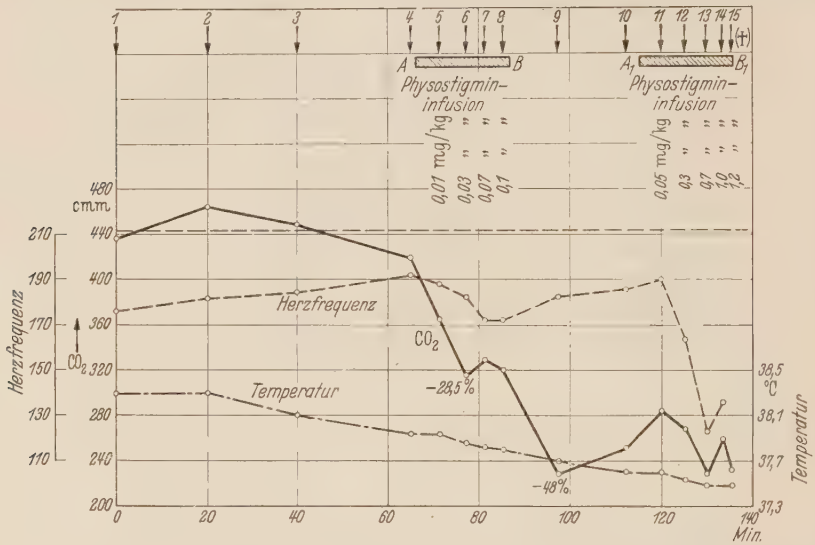


Abb. 7. Wirkung von Physostigmin auf die Cholinesterase des Blutes (60-Minutenwert) am ganzen Tier. Daneben Herzfrequenz und Körpertemperatur. $A-B$: Dauer der Infusion einer schwachen, A_1-B_1 einer 10mal stärkeren Lösung. Darunter die jeweils insgesamt infundierten Giftmengen. Die mit Pfeilen versehenen Zahlen zeigen die einzelnen Blutentnahmen an. Gewicht der Katze 2,7 kg.

wurde. Die Herzfrequenz folgt im wesentlichen auch hier dem Verlauf der Esterasekurve.

Was die Wirkung des Physostigmins auf die Esterase betrifft, so sei hierfür eine charakteristische Kurve gebracht (Abb. 7), aus der zu ersehen ist, daß schon 0,01 mg/kg einen deutlichen Effekt zeigen kann, daß jedoch bei gleichmäßiger Infusion (0,1 mg/kg in 1 ccm und 20 Minuten) der Tiefpunkt (28,5 %) in 10 Minuten erreicht ist und sich in den nächsten 10 Minuten kaum mehr ändert, aber nach Abschluß der Infusion weiter absinkt (bis auf 48 %). Eine 30 Minuten später beginnende Infusion mit einer 10mal stärkeren Lösung (1 mg/kg in 1 ccm und 20 Minuten) kann das Maximum auch nicht mehr herunterdrücken und die Zahlen für die gebildete CO_2-Menge halten sich auf annähernd gleicher Höhe bis zum Eintritt des Todes.

Von einem spezifischen Fermentgift wäre nun eigentlich zu erwarten, daß es die Esterase stets lähmt. Das ist aber nicht der Fall, denn von unseren 6 Versuchen wirkte das Physostigmin einmal fast gar nicht, ein zweites Mal aber invers (Abb. 8).

Wir sehen hier, daß sonst stark wirksame Dosen die Tätigkeit der Esterase nicht nur nicht hemmen, sondern sogar steigern (bis um 40%), wobei besonders interessant ist, daß die Herzfrequenz die Schwankung nach oben mitmacht. Auch beim Eintritt des Todes und nachher (Herzblut)

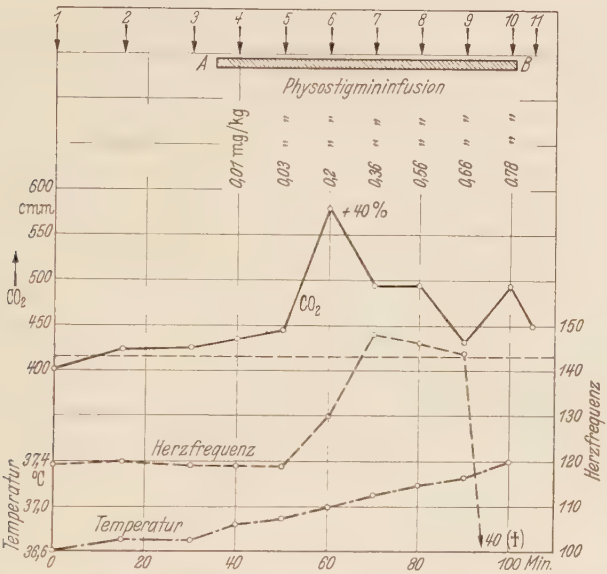


Abb. 8. Paradoxe Wirkung des Physostigmins auf die Cholinesterase des Blutes am ganzen Tier. Darunter Herzfrequenz und Körpertemperatur. *A—B*: Dauer der Infusion mit den jeweils insgesamt infundierten Giftmengen. Die mit Pfeilen versehenen Zahlen zeigen die einzelnen Blutentnahmen an. Gewicht der Katze 2,4 kg.

bleibt die entwickelte CO_2-Menge immer noch höher als vor Beginn des Versuchs.

Eine Kombination von Physostigmin und Methylenblau (Abb. 9) in kleinen Dosen ließ weder eine Verstärkung noch Abschwächung der Wirkung zutage treten.

Beim Vergleich der Wirkung von Methylenblau und Physostigmin auf die Esterase erkennt man, daß beide Mittel sowohl in vitro als in vivo stark wirksam sind, wobei sich das Methylenblau in vitro etwa 2mal, in vivo etwa 10mal schwächer erweist als das Physostigmin. Da aber andererseits das Methylenblau etwa 100—200mal weniger giftig ist als das Physostigmin, lassen sich bedeutend höhere Dosen davon verabreichen (man hat einer Katze im Laufe von 2 Stunden sogar bis zu 7 g Methylenblau injiziert, wobei nur wenig charakteristische Vergiftungssymptome

auftraten[6]), und man kann so die Esterase mit Hilfe von Methylenblau um 60– 80% senken, während nach Physostigmingaben gewöhnlich schon bei einer Verminderung der Cholinesterase um durchschnittlich 50% der Tod eintritt.

Es ist in diesem Zusammenhang interessant darauf hinzuweisen, daß durch spontane Blutdrucksenkung (von maximal mehr als 130 mm Hg) eine Wirkungsabnahme der Esterase von höchstens 25% zu erreichen ist und daß selbst nach elektrischer Vagusreizung eine Einschränkung der Esterase um nur 36% im Maximum gelang[7]. Nun hat man in der Literatur zur Erklärung einer gelegentlich zu

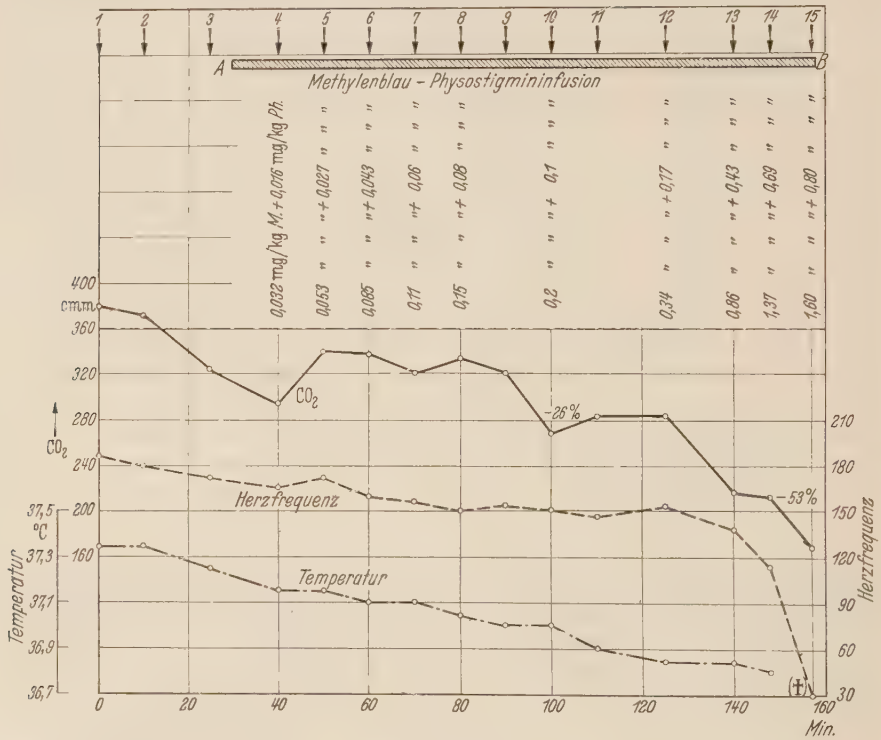


Abb. 9. Wirkung einer Mischung von Methylenblau (0,1 %) und Physostigmin (0,05 %) auf die Cholinesterase des Blutes. Darunter Herzfrequenz und Körpertemperatur. *A—B*: Dauer der Infusion mit den jeweils insgesamt verabreichten Giftmengen. Die mit Pfeilen versehenen Zahlen zeigen die einzelnen Blutentnahmen an. Gewicht der Katze 2,36 kg.

beobachtenden Vagushemmung durch große Physostigminmengen angenommen, daß diese die Esterase total hemmen könnten, wodurch die für das Zustandekommen des Konzentrationsgefälles notwendige Vagusstoffzerstörung ausfallen und die Zelle vollaufen würde. Da nun aber eine totale Hemmung der Esterase sich am lebenden Tier nicht erzielen läßt, dürfte dieser Erklärung die Grundlage entzogen sein.

[6] Führer, H.: In Heffters Hdb. exper. Pharmakol. **1**, 1272 (1923). — [7] Zinnitz, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 316 (1940).

Der Verlauf der Esterasekurve zeigt sowohl nach Methylenblau wie nach Physostigmin zunächst einen geringen Anstieg, dann eine Senkung und ein Stehenbleiben auf einer bestimmten Höhe trotz fortdauernder Giftinfusion.

Die Kurve der Herzfrequenz folgt grundsätzlich jener der gebildeten Kohlensäure, doch hat man den Eindruck, als ob dies unter Methylenblau williger geschieht als unter Physostigmin.

Diskussion der Versuchsergebnisse.

Methylenblau hemmt die Tätigkeit der Cholinesterase, nach dem Kurvenverlauf zu urteilen, sowohl im Modellversuch wie am ganzen Tier in qualitativ gleicher Weise wie Physostigmin. Da nun dieses auf Grund seiner Hemmungswirkung als spezifisches Mittel gilt, das den Effekt des auf die Erfolgsorgane einwirkenden Azetylcholins außerordentlich verstärkt, so müßte man von vornherein eine ähnliche Eigenschaft auch für das Methylenblau voraussetzen dürfen. Nun hat dieser Farbstoff tatsächlich eine besondere Verwandtschaft zu den Endigungen des parasympathischen Nervensystems, sie besteht aber, im strikten Gegensatz zum Physostigmin, nicht in einer Sensibilisierung oder Erregbarkeitssteigerung derselben für parasympathische Reizmittel, sondern das Methylenblau erweist sich schon in großer Verdünnung als atropinähnlicher Antagonist des Azetylcholins, Muscarins, Arecolins usw. und ebenso der elektrischen Vagusreizung, sowohl in Versuchen am Hund als auch am isolierten Frosch- und Schildkrötenherzen, am Rectus abdominis des Frosches und am Rattendarm[8] [13]. An der lebenden Katze ließ sich allerdings eine Vaguslähmung nicht erzielen[11] und an der Blutegelmuskulatur ergab sich sogar ein starker Synergismus[13]. Die Wirkungen des Methylenblaus unterschieden sich auch sonst wesentlich von jenen des Physostigmins, was sich auch in der therapeutischen Anwendung beider Mittel äußert: während Physostigmin bekanntlich bei Glaukom, Darmatonie und Myasthenie gegeben wird, dient Methylenblau zur Schmerzlinderung und Entzündungshemmung, sowie als Antisepticum, Antimalariamittel und Antidot bei Vergiftungen mit Blausäure oder Kohlenoxyd.

Auf Grund der Einwirkung eines Mittels auf die Cholinesterase darf somit kein bindender Schluß hinsichtlich der pharmakologischen Wirkung desselben gezogen werden. So ist bereits früher dargetan worden[14], daß beispeilsweise Veritol die Esterase in vitro hemmt, Coramin aber dieselbe fast unbeeinflußt läßt und doch beide am ganzen Tier den Blutdruck

[8] Koskowski, W., u. Et. Maigre: C. R. Acad. Sci. **173**, 397 (1921). [9] Heymans, C.: Arch. internat. Pharmacodynam. **27**, 257 (1923). — [10] Cook, R. P.: J. Physiol. (Brit.) **62**, 160 (1926/27). — [11] Pines, J.: Arch. internat. Pharmacodynam. **49**, 91 (1934). — [12] Sachs, A.: Ebenda **55**, 376 (1937). — [13] Raventós, J.: Quart. J. exper. Physiol. **27**, 99 (1937/38). — [14] Zinnitz, F., u. Ed. Rentz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 316 (1940).

steigern und die Esterase fördern. Auch unter dem in vitro und normalerweise auch in vivo esterasehemmenden Digitoxin kann gelegentlich der Blutdruck und mit ihm die Esterasekonzentration im Blute zunehmen[14], ganz wie es unter Physostigmin zuweilen gesehen wird (Abb. 8). Von einer spezifischen Hemmung der Esterase durch irgendein Mittel, auch durch Physostigmin, dürfte somit eigentlich nicht gesprochen werden, schon gar nicht, wenn von diesen Mitteln nur bekannt ist, daß sie, wie beispielsweise Muscarin, Chinin, die Fluoride u. a., die Esterase in vitro stark hemmen. Die verschiedenartigen und, mit Ausnahme der Herzwirkung, sogar entgegengesetzten Eigenschaften des Methylenblaus und Physostigmins trotz gleicher Wirkung auf die Esterase zwingen sogar zur Annahme, daß zwischen Esterasehemmung und Sensibilisierung bestimmter Organe durch diese Mittel kein direkter Zusammenhang zu bestehen oder zum mindesten ein solcher nicht manifest zu werden braucht. Auch Dodel und Mitarbeiter[15] sind interessanterweise auf Grund ihrer Versuche an der Blutegelmuskulatur zu einer ähnlichen Auffassung gelangt. Es hatte beispielsweise das Apomorphin eine etwa 10mal stärkere esterasehemmende Wirkung als das Eudokal, und doch wirkt dieses etwa 1000mal stärker für Azetylcholin sensibilisierend als jenes. Man dürfte jedenfalls nach alledem mit Recht behaupten dürfen, es sei noch nicht endgültig bewiesen, daß die erregbarkeitssteigernde Wirkung des Physostigmins auf der Esterasehemmung beruhe. Es fragt sich deshalb ferner auch, ob die Annahme zu Recht besteht, daß viele, wenn nicht alle (Gaddum und Dale[16]) oder gar, daß alle Wirkungen des Physostigmins (Starkenstein[17]) nur indirekte Azetylcholinwirkungen sind. Wenn man, wie schon seinerzeit Winterberg[18] gefordert hat, auch eine direkte Reizwirkung des Physostigmins annehmen wollte, dann brauchten nicht alle Physostigminwirkungen mit der Esterasehemmung in Zusammenhang gebracht zu werden und die Dynamik des Physostigmins würde uns pharmakologisch wahrscheinlicher anmuten, als das eben der Fall ist.

Nun hat Zinnitz[7] zeigen können, daß zwischen dem Grad der Konzentration der Cholinesterase im Blutserum und der Höhe des Blutdrucks ein Zusammenhang besteht, und zwar nimmt der Esterasegehalt mit ansteigendem Blutdruck zu, während er bei sinkendem vermindert wird. Wir[14] haben ferner in Versuchen an Katzen mit einigen Herz- und Gefäßmitteln zeigen können, daß jede Blutdruckerhöhung bzw. Steigerung der Herzfrequenz eine Vermehrung, und jede Herabsetzung des Blutdrucks bzw. der Herzfrequenz eine Verminderung des Esterasegehaltes im Blutserum zur Folge hat, oft, wie bereits betont, unabhängig davon, wie das Mittel in vitro auf die Esterase wirkt. Vergleicht man nun die Wirkungs-

[15] Dodel, P., G. Dastugue u. A. Bresson: C. R. Soc. Biol. **133**, 429 (1940). — [16] Gaddum, J. H., u. H. H. Dale: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe, S. 141. Leipzig 1936. — [17] Starkenstein, E.: Pharmakologie 1938. — [18] Winterberg, H.: Z. exper. Path. u. Ther. **4**, 636 (1907).

spektren von Methylenblau und Physostigmin miteinander, so findet man, wie auch in unseren Versuchen, neben der Wirkung auf die Esterase nur noch eine gemeinsame Eigenschaft, nämlich die Veränderung von Herz und Blutdruck. Daß Physostigmin das Herz verlangsamt und den Blutdruck senkt, ist bekannt. Vom Methylenblau weiß man, daß es, beispielsweise am Hunde, nach kurzdauernder Steigerung des Blutdrucks eine merkliche Senkung desselben macht[19]. Am Menschen kommt es auch zu einer langanhaltenden Herzverlangsamung[20]. Am Kaninchenherzen nehmen Systole und Diastole ab und es zeigt sich eine Tendenz zu Stillstand und Kontraktion in Mittelstellung[21], und am Froschherzen kommt es zu starker Amplitudenverminderung und zum Stillstand der Ventrikeltätigkeit[19, 22]. Es ist demnach die Veränderung des Herzens und des Blutdrucks oder nur des Herzens allein (wenn wir mit Gotsev[23] die Veränderungen im Blutdruck als durch dieses bedingt ansehen wollen), dessen Tätigkeit vor allem mit der Konzentration der Cholinesterase im Blute in Zusammenhang steht. Andererseits scheint die gleichzeitige Beeinflussung von Herztätigkeit und Esterase nichts für irgendeinen Stoff Spezifisches zu sein, sondern es wird die Esterase bei einer jeden durch chemische oder andere Reize bedingten Änderung der Herztätigkeit mitreagieren.

Es fragt sich zum Schluß, wie es zu erklären sei, daß Methylenblau und Physostigmin beide die Herztätigkeit und damit die Esterase in gleicher Richtung verändern, sich aber hinsichtlich der Sensibilisierung für parasympathische Reize entgegengesetzt verhalten. Das kann dem Verständnis nur nähergebracht werden, wenn man auch die Wirkung des Methylenblaus auf die Esterase von seiner direkten Herzwirkung trennt. Diese kann nach Cook[10] aufgehoben sein, während das Herz tiefblau ist und, umgekehrt, ganz deutlich sein, wenn das Herz noch nicht sichtbar gefärbt ist. Es handelt sich hier also um eine reversible Oberflächenwirkung (daneben besteht noch eine irreversible, mit der Farbstoffspeicherung zusammenhängende Dauerverkürzung), und zwar (nach Sachs[12] wie auch Gremels[24]) um eine Herabsetzung der Permeabilität, wobei das Methylenblau einen Schutzwall bildet und das Eindringen hinzugefügter parasympathischer Reizmittel oder, in unserem Falle, des durch Hemmung der Esterase vermehrten Azetylcholins verhindert. Daß der Mechanismus der Herzwirkung von Physostigmin und Methylenblau nicht der gleiche ist, geht vielleicht auch aus der geringeren Giftigkeit des Methylenblaus für das Herz hervor, wie auch aus dem Befund, daß die Kurve der Herzfrequenz jener der Esterasemenge unter Methylenblau etwas besser folgt

[19] Garfounkel, I. G., u. J. Gautrelet: C. R. Acad. Sci. **157**, 1464 (1913). — [20] Gabrielli, S.: Atti Ist. Veneto Sci. **96**, 127 (1937), zit. n. d. Ber. ges. Physiol. **104**, 669 (1938). — [21] Lundberg, H.: Skand. Arch. Physiol. **45**, 237 (1924). — [22] Heymans, C., u. Et. Maigre: Arch. internat. Pharmacodynam. **26**, 129 (1922). — [23] Gotsev, T.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 26 (1940). — [24] Gremels, H.: Erg. Physiol. usw. **42**, 94 (1939).

als unter Physostigmin. Diese Vorstellung läßt trotz allem manches im Dunkeln und es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, hier Klarheit zu schaffen.

Zusammenfassung.

1. Mit Hilfe der von Ammon angegebenen gasanalytischen manometrischen Methode wird festgestellt, daß von einer Reihe daraufhin untersuchter Farbstoffe vor allem das Methylenblau sowohl im Modellversuch (Eigenserum) als auch am ganzen Tier (Katze) die Tätigkeit der Cholinesterase schon in sehr geringer Konzentration hemmt.

2. Die dem Methylenblau und dem Physostigmin gemeinsame Wirkung auf Herz und Esterase bestätigt aufs neue die Auffassung, daß eine jede, einerlei wodurch bedingte Änderung der Herztätigkeit und des Blutdrucks von entsprechenden Schwankungen der Cholinesterase begleitet wird. Der Mechanismus der Herzwirkung kann dabei sehr verschieden sein, und es muß beispielsweise vom Methylenblau angenommen werden, daß seine Oberflächenwirkung für diese von Bedeutung ist.

3. Die verschiedenen und sogar entgegengesetzten sonstigen Eigenschaften von Methylenblau und Physostigmin, insbesondere hinsichtlich der parasympathischen Reizmittel, zwingen zur Annahme, daß zwischen der Esterasehemmung und der Sensibilisierung bzw. Erregbarkeitssteigerung bestimmter Organe durch irgendein Mittel kein direkter Zusammenhang zu bestehen oder zum mindesten ein solcher sich nicht zu manifestieren braucht. Es kann demnach auch angezweifelt werden, ob tatsächlich die Wirkungen des Physostigmins nur als indirekte Azetylcholinwirkungen aufzufassen sind.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg.
(Direktor: Prof. Dr. E. Keeser.)

Zur Wirkungsweise von Santonin und Chenopodiumöl.

Von
H.-A. Oelkers.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 18. Juli 1940.)

Bei Untersuchungen am Nerv-Muskelpräparat des Blutegels und am entnervten Blutegelmuskel kamen v. Brücke und Sarkander[1] kürzlich zu dem Ergebnis, daß Santonin beim Blutegel ausschließlich auf das Nervensystem wirkt. Die von Trendelenburg[2] beschriebene muskuläre Erregungswirkung soll nach diesen Untersuchungen für den Blutegel nicht zutreffen. Auch Oleum Chenopodii führte bei den Versuchen der genannten Autoren nicht zu rhythmischen Kontraktionen der entnervten Blutegelmuskeln, sondern nur zu einer verhältnismäßig schwachen, leicht auswaschbaren Kontraktur.

Im Verlauf von Untersuchungen über die Wirkungsweise der Anthelmintica[3] fiel auf, daß entnervte Blutegelmuskeln erheblich langsamer durch Chenopodiumöl, Ascaridol, p-Cymol und Thymol in einen Erregungszustand, in dem rhythmische Kontraktionen auftreten, versetzt werden als der nervenfreie Regenwurmmuskel. Bei schwachen Konzentrationen der genannten Mittel vergehen oft mehrere Stunden, ehe deutliche Bewegungen auftreten. Aus den der Mitteilung von v. Brücke und Sarkander beigefügten Abbildungen geht nun hervor, daß die Autoren Santonin und die anderen von ihnen geprüften Mittel anscheinend nur kürzere Zeit (etwa 15—20 Minuten) auf die Wurmmuskulatur einwirken ließen und den Versuch abbrachen, wenn bis dahin keine Kontraktionen auftraten.

Aus diesem Grunde wurden zunächst nochmals einige Versuche mit Chenopodiumöl am nervenfreien Blutegelmuskel nach Führer[4] mit der in einer früheren Mitteilung beschriebenen Versuchsanordnung[3] vorgenommen.

Hierbei zeigte es sich, daß es bei Konzentrationen von 20—30 mg% zunächst zu einer leichten Tonuszunahme des Muskelstückes kommt, wie dies von v. Brücke und Sarkander[1] angegeben wurde. Einige Zeit später — oft erst nach mehr als einer Stunde — treten dann aber rhythmische

[1] Brücke, Fr. v., u. H. Sarkander: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 79 (1940). — [2] Trendelenburg, P.: Ebenda **79**, 190 (1915). — [3] Oelkers, H.-A.: Ebenda **195**, 315 (1940). — [4] Führer, H.: Ebenda **82**, 81 (1917).

Kontraktionen auf, die zunächst sehr klein sind, allmählich aber etwas stärker werden. Später pflegt der Tonus des Muskelstücks abermals zuzunehmen; die Kontraktionen werden gleichzeitig stärker, aber seltener, und hören schließlich — etwa $1^1/_2$ Stunden nach ihrem Beginn — ganz auf. Der Muskel verharrt dann lange Zeit im kontrahierten Zustand.

Die Wirkung des Chenopodiumöls auf den nervenfreien Blutegelmuskel entspricht in vieler Beziehung der des Ascaridols, obwohl sich bei geeigneten höheren Konzentrationen Kurvenbilder ergeben können, die mehr den Wirkungen von p-Cymol, das zu etwa 20% im Chenopodiumöl vorhanden ist, ähneln.

Die Versuche mit Santonin ergaben in Übereinstimmung mit den Angaben von v. Brücke und Sarkander, daß das nervenfreie Blutegelmuskelstück in Santoninkonzentrationen bis zu 10 mg% innerhalb von

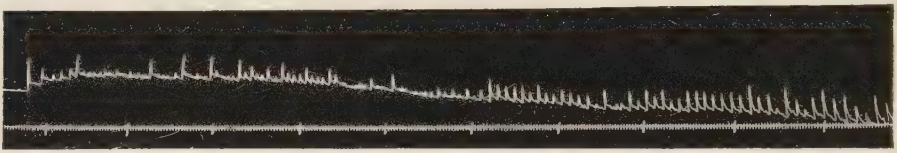


Abb. 1. Blutegelmuskel 15 Min. nach dem Einbringen in Kaltblüterringerlösung, die Santonin zu 30 mg% enthielt. Zeitmarkierung 20 Sek. und 10 Min.

15–20 Minuten völlig bewegungslos bleibt. Indessen traten gewöhnlich nach längerer Versuchsdauer, und zwar meist erst nach 2—3 Stunden schwache Kontraktionen auf, die oft nach einigen weiteren Stunden etwas deutlicher wurden. Immerhin war die Wirkung in jedem Falle nur sehr gering.

Bei weiteren Versuchen wurden größere Santoninkonzentrationen dadurch hergestellt, daß eine geeignete Santoninmenge in dem zu benutzenden Versuchsgefäß zunächst in einigen ccm Alkohol durch Erwärmen gelöst und dann die erforderliche Menge Kaltblüterringerlösung rasch und unter starkem Umrühren zugesetzt wurde. Der Alkoholgehalt der fertigen Versuchslösung betrug 1—2% und übt keine nachweisbaren Wirkungen auf das Muskelpräparat aus. Es ließen sich auf diese Weise Lösungen mit einem Santoningehalt von 20—50 mg% herstellen, in die dann das betreffende Muskelpräparat sogleich eingebracht wurde. Nach einiger Zeit kam es hierbei allerdings zu einem teilweisen Ausfallen des Santonins.

Trotz der schlechten Stabilität der Santoninlösungen traten aber nach kurzer Zeit, meist innerhalb von 10—20 Minuten, selten erst nach $^1/_2$ bis 1 Stunde, rasch stärker werdende Kontraktionen des Muskelstückes auf, die viele Stunden lang anhielten. Die Abb. 1 gibt einen derartigen Versuch wieder und zeigt gleichzeitig, daß die Form der muskulären Erregung eine andere als die durch Chenopodiumöl bewirkte ist. Sie weicht auch

von der früher beschriebenen[3] durch p-Cymol ebenso wie von der durch Ascaridol verursachten Erregungsform ab. Sie entspricht nach anderen Versuchen am ehesten den durch Thymol erzeugten Erregungsbildern.

Santonin ist also nach diesen Versuchen auch für den Blutegel nicht nur ein Nervengift, sondern ebenso wie zahlreiche andere Wurmmittel auch ein Muskelgift. Die Wirkung auf die Muskulatur tritt allerdings am Blutegelpräparat erst nach verhältnismäßig langer Zeit und bei Konzentrationen auf, deren Herstellung gewisse Schwierigkeiten bereitet.

Zusammenfassung.

Untersuchungen am nervenfreien Muskelpräparat des Blutegels ergaben, daß sowohl Santonin als auch Chenopodiumöl in geeigneten Konzentrationen und nach längerer Latenzzeit rhythmische Kontraktionen herbeizuführen vermögen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über die Wirkung fortgesetzter Nikotininjektionen bei Kanarienvögeln*.

Von

Dietrich Gaede.

(Eingegangen am 14. August 1940.)

Die tägliche Nikotinaufnahme beim Tabakgenuß ist erheblich und erreicht die Größenordnung der tödlichen Dosis. In Anbetracht der Giftigkeit des Nikotins in der Einzeldosierung ist die Wirkungsweise wiederholter großer Nikotingaben, wie beim Tabakgenuß, ein Problem, das bis heute nur sehr unvollständig bearbeitet worden ist. Änderung in der Reaktionsweise auf eine Nikotingabe, das Auftreten von Schädigungen und die Beeinflussung der mittleren tödlichen Dosis im Laufe einer fortgesetzten Nikotinbehandlung sind die Hauptsymptome, die uns die Berechtigung geben könnten, von einer Gewöhnung an Nikotin zu sprechen. Aus zahlreichen Untersuchungen, die bei F. Lickint (1) referiert werden, geht hervor, daß infolge großer Unterschiede von Tierart zu Tierart keine allgemeingültige Antwort auf die Frage der Nikotingewöhnung gegeben werden kann. Von verschiedenen Forschern wird bei wiederholter Darreichung des Alkaloids einwandfrei eine Abnahme der Vergiftungssymptome beschrieben. Bereits in Infusionsversuchen stellt man stets einen raschen Rückgang des Wirkungsausmaßes fest. Man findet häufig, daß gegen Ende von Blutdruckversuchen sehr hohe Nikotindosen venös ohne wesentliche Reaktionen vertragen werden. Bei diesen kurzfristigen Versuchen scheint sich fortschreitend eine Lähmung der Angriffsorte des Nikotins auszubilden, bis schließlich eine weitere Nikotindosis vom Organismus nicht mehr beantwortet wird. Die der Gewöhnung an Nikotin zugrunde liegenden Vorgänge sind noch ungeklärt, vor allem, ob hierbei eine gesteigerte Ausscheidung oder Zerstörung eine Rolle spielt. Nur ein geringer Prozentsatz wird unverändert durch den Urin ausgeschieden. Der Abbau des Nikotins durch lebendes Gewebe auf Grund fermentativer Prozesse wurde mit Hilfe der Warburgschen Gewebsschnittmethode von E. Werle (2) nachgewiesen. Bei der langdauernden chronischen Aufnahme von Nikotin ist nach W. E. Dixon (3) anzunehmen, daß die Leber, die am Verschwinden des Nikotins hervorragend beteiligt ist, lernt, das Nikotin schneller zu beseitigen. Auch am Menschen sind Gewöhnungserscheinungen deutlich zu beobachten; manche Forscher erachten die Gewöhnung des Menschen an Nikotin — mit Unrecht — für gering, weil nur geringe Abstinenzerscheinungen auftreten.

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Am Gefäßsystem des Kaninchens wurden wiederholt Dauerschädigungen bei chronischer Nikotingabe beobachtet [O. Josué (4), J. Adler(5), P. Boveri (6), M. J. Baylac (7) u. a.]. Schädigungen an anderen Lebewesen, vor allem auch am Menschen, wurden, allerdings mit vielfachen Widersprüchen, als Folgen fortgesetzter Nikotinaufnahme beschrieben.

Wenn in Tierversuchen überhaupt Gewöhnungserscheinungen beobachtet wurden, so blieb die mittlere tödliche Dosis im allgemeinen unverändert. Dagegen hatten W. Heubner und J. Papierkowski (8) festgestellt, daß weiße Mäuse bei täglicher Zufuhr großer Bruchteile der tödlichen Dosis eher eine erhöhte Empfindlichkeit als einen Rückgang der Wirkung zeigten: nach wiederholter Gabe führten Dosen, die primär gut vertragen wurden, zum Tode; die Frage der Kumulation wurde dabei nicht sicher geklärt. Diese Frage ist von verschiedenen Forschern bejahend beantwortet worden, doch muß sie noch als unentschieden gelten. Viel wahrscheinlicher als eine echte Kumulation des Giftes ist eine Änderung der Reaktionsweise des Organismus, die man mit Allobiose bezeichnet.

Für neue Versuche zur Frage der Nikotingewöhnung mit Beobachtung der Einzelwirkung und Bestimmung der mittleren tödlichen Dosis an nicht nikotingewöhnten und an nikotingewöhnten Tieren wählte ich Kanarienvögel, da das Bild der akuten Nikotinwirkung am Vogel außerordentlich deutlich ausgeprägt ist und rasch abklingt. Änderungen in der Reaktionsweise bei wiederholter Nikotingabe müssen hier also besonders klar hervortreten. Durch genaue tägliche Beschreibung des Wirkungsbildes der Nikotingaben und des Allgemeinzustandes der Tiere wurde es möglich, eine Änderung im Ablauf der Vergiftungssymptome und im Gesundheitszustand der Vögel zu erfassen. Aus der Bestimmung der mittleren tödlichen Dosis zu Versuchsende und dem Vergleich dieser Werte für nikotingewöhnte und nicht nikotingewöhnte Kanarienvögel mußten etwaige Resistenzveränderungen deutlich hervorgehen. Der Vergleich von Tieren, die täglich steigende Dosen von Nikotin erhielten, mit solchen, die nur alle vier Tage mit der gleichen Dosierung behandelt wurden, sollte zur Klärung der Frage einer Kumulation bei fortgesetzter Behandlung mit Nikotin dienen.

Methodik.

Kanarienweibchen mit durchschnittlichem Gewicht von 15—20 g erhielten Injektionen der reinen Base, die in gepufferter physiologischer Salzlösung angewandt wurde. Die Lösungen wurden derart angesetzt, daß jedes Tier bei jeder Injektion in etwa 0,1 ccm Flüssigkeit die seinem Körpergewicht entsprechende Nikotinmenge erhielt. Die Injektionen erfolgten unter die Brusthaut bei täglichem Wechsel der Brusthälfte. Intramuskuläre Injektionen wurden vermieden, da hierbei leicht Blutgefäße getroffen werden und sich dann große Hämatome ausbilden können, an denen die Tiere infolge Verblutung zugrunde gehen; ferner ist hierbei die Geschwindigkeit, mit der das Nikotin in die Blutbahn gelangt, von Injektion zu Injektion sehr verschieden. Kontrolltiere wurden in gleicher Weise mit physiologischer Salzlösung behandelt. Kontrollen sind besonders wichtig, da bei der Mauserung oder

auch aus anderen Gründen sehr viele Tiere spontan sterben und so der Ausfall empfindlicherer Tiere eine höhere Nikotintoleranz vortäuschen kann.

In Vorversuchen mit täglichen Injektionen von etwa 5 γ pro g Körpergewicht wurden innerhalb von zwei Monaten Gewöhnungserscheinungen beobachtet: die Reaktionen auf die einzelnen Injektionen waren deutlich schwächer geworden.

Die Hauptversuche wurden mit 150 Tieren in der Zeit von April bis Juni 1939 durchgeführt. Die Tiere wurden hierbei in folgende Gruppen eingeteilt:

1. Gruppe: 33 Tiere erhielten täglich 3 γ/g.

2. Gruppe: 25 Tiere erhielten täglich Nikotin von 6—18 γ/g steigend.

3. Gruppe: 25 Tiere, Dosierung wie bei der 2. Gruppe, jedoch lag zwischen den Injektionen ein viertägiger Abstand.

4. Gruppe: 15 Tiere wurden als Kontrollen täglich mit gepufferter physiologischer Salzlösung gespritzt.

5. Gruppe: 50 Tiere wurden am Versuchsende gekauft, um die mittlere tödliche Dosis zu bestimmen.

Die Tiere der Gruppen 1—4 wurden etwa 7 Wochen lang in der angegebenen Weise behandelt. Die 3. Gruppe wurde aufgestellt, um etwaige kumulative Effekte durch Gegenüberstellung mit der 2. Gruppe erkennen zu können.

Die Höhe der einzelnen Nikotingaben wurde nach folgenden Gesichtspunkten in der oben angegebenen Weise festgelegt: bei subcutanen Injektionen von 3 γ/g Körpergewicht sind bereits deutliche und regelmäßige Reaktionen vorhanden, die mit keinen schwereren, insbesondere keinen lebensbedrohlichen Zuständen verbunden sind. Aus Vorversuchen ging hervor, daß die mittlere tödliche Dosis etwa bei 25 γ/g liegt. Die höheren Dosierungen in der 2. und 3. Gruppe sollten den Verhältnissen des normalen Rauchers entsprechen, der täglich die Hälfte der akut tödlichen Dosis oder auch sehr viel mehr an Nikotin aufnimmt.

Nach 7 Wochen wurde für jede Gruppe die mittlere tödliche Dosis nach dem Verfahren von Gaddum (9) unter Verwendung des Wahrscheinlichkeitspapieres bestimmt. Hierzu wurden die Tiere der einzelnen Gruppen in jeweils zwei Untergruppen eingeteilt, von denen der einen eine Dosis um 20 γ/g, der anderen eine Dosis um 30 γ/g Körpergewicht Nikotin subcutan einmalig injiziert wurde. Mit der 4. Gruppe konnte nur eine Bestimmung durchgeführt werden, da die Zahl der Tiere für zwei Untergruppen zu klein war.

Ergebnisse.

1. Einfluß einer Vorbehandlung mit Nikotin auf den Verlauf der akuten Nikotinwirkung.

Alle Tiere befanden sich nach der Injektion in einem hypnotischen Zustand, in dem sie in Seitenlage einige Sekunden verweilten. Bei den gespritzten Kontrolltieren wurde dieser Zustand allerdings nur anfangs

und sehr flüchtig beobachtet. Im Laufe der Zeit schwand auch bei den mit Nikotin behandelten Tieren dieses Stadium.

Bei den mit 3 γ/g behandelten Tieren folgte dann eine Atemerregung mit Piepsen und teilweise mit koordiniertem Flügelschlagen; die Tiere verharrten mit der unbehandelten Brusthälfte dicht dem Boden angepreßt, flogen dann nach etwa 2 Minuten auf die Stange, wo sie unter zunehmender Plusterung in Ruhe verblieben. Hin und wieder liefen nun über die Tiere kleine Erregungswellen mit Schnabelknirschen und Brechbewegungen; hierbei wurde der Kopf mit krampfhaft geöffnetem Schnabel hin und her geworfen und Flüssigkeit aus dem Schnabel geschleudert. Nach 10—30 Minuten erholten sich die Tiere wieder und begannen zu fressen. Die Erholungszeit war nicht immer gleich lang, sie wechselte auch sehr mit der allgemeinen Gesundheitslage der Tiere.

Anfangs waren die Reaktionen auf die einzelnen Injektionen annähernd gleichartig; — allerdings erscheint bei jedem Nikotinversuch die Wirkung der ersten Gabe besonders ausgeprägt.

Im Verlauf einiger Wochen nahmen die Erscheinungen immer mehr ab, wurden weniger markant, wenn auch vereinzelte Tiere bis gegen Ende des Versuches noch Brechwirkungen zeigten. Schließlich erschien das gesamte Vergiftungsbild nur noch als Depression.

Im Gegensatz hierzu war das Vergiftungsbild der anfangs mit 6 γ/g behandelten Vögel durch seine Schwere gekennzeichnet. Nach der Hypnose trat eine stärkere motorische Unruhe ein, teilweise piepsten die Tiere laut, lagen mit stark bebender Atmung dem Boden angepreßt; die Einatmung stockte, die Ausatmung erfolgte in krampfhaften Stößen. Der Kopf wurde nun erregt hin und her geworfen, die Tiere erbrachen. Nach 3 Minuten waren einzelne Tiere auf die Stange gehüpft und gerieten hier in einen narkoseähnlichen Zustand; jetzt ließen sie sich in Rückenlage bringen. Langsam sank der Kopf vornüber, dann schraken die Tiere auf, und wieder sank der Kopf nach vorn, das Ganze wiederholte sich mehrmals. Die Tiere hielten die Augen geschlossen oder preßten die Lider wie im Schmerz zusammen; in diesem Stadium waren die Vögel stets erweckbar. Nach 10 Minuten kam eine neue Erregungswelle, wobei die Tiere Brechbewegungen ausführten, um nun wieder unter immer stärkerer Plusterung in den narkoseähnlichen Zustand der Ruhe zu geraten. Nach $^3/_4$ Stunden etwa richteten sich die Tiere allmählich auf. Inzwischen waren auch die restlichen Tiere auf die Stange gehüpft. Aber erst nach 2 Stunden und länger verhielten sich diese Vögel wieder wie unbehandelte Tiere. In der ersten Zeit der Vergiftung war das Fliegen deutlich gestört, wenn man die Tiere hierzu zwang, indem man sie in die Luft warf. Bei wiederholten Nikotingaben wurden auch bei diesen Tieren die Erscheinungen immer geringer.

Bei Erhöhung der Dosis auf 7 γ/g und höher beobachtete man bei einer gewissen Anzahl von Tieren Krampfzustände, die hin und wieder auch bei kleineren Dosen auftraten. Zwei Krampfarten ließen sich deutlich unterscheiden, Früh- und Spätkrämpfe. Frühkrämpfe traten vor allem

Tabelle 1.

Gruppe Nr.	Zahl der Tiere	Vorbehandlung sc. Nikotindosen in γ/g Körpergewicht	Tot durch Injektionsunfall	Tot durch allgemeines Vogelsterben	Tot im Verlauf des chronischen Versuchs	Bestimmung der mittleren tödlichen Dosis: Zahl der Tiere/Zahl der Toten bei Nikotin 18 γ/g	21 γ/g	25 γ/g	30 γ/g	35 γ/g
1	33	täglich 3	2	5	0			10/2 = 20 %	10/6 = 60 %	6/4 = 67 %
2	25	täglich 6 γ steigend bis 18 γ	6	3	5 bei 18 γ	16/5 = 38 %			16/11 = 69 %	
3	25	alle 4 Tage, von 6 γ steigend bis 18 γ	1	2	4 bei 18 γ	22/4 = 18 %			22/10 = 46 %	22/16 = 73 %
4 + 5	50	Kontrollen	0	4		(9/0)	18/4 = 22 %		28/16 = 57 %	

In der 2. Gruppe wird der Wert für 30 γ/g 16/11 gebildet durch 5 + 11 / 5 + 6, da die 5 Tiere, die bereits bei 18 γ im Verlauf des Versuchs gestorben waren, hinzugerechnet werden müssen. Das gleiche gilt für die 3. Gruppe, wo die 4 bei 18 γ gestorbenen Tiere sowohl bei dem Wert für 30 γ wie auch bei dem für 35 γ berücksichtigt werden mußten, das konnte aber nur dann wahrheitsgetreu geschehen, wenn in beiden Fällen auf 22 Tiere extrapoliert wurde: bei 30 γ starben von 9 Tieren 3, also $2 \times 9 + 4 / 2 \times 3 + 4 = 22/10$, analog für 35 γ $2 \times 9 + 4 / 2 \times 6 + 4 = 22/16$. Da bei den Kontrollen alle Tiere bei 18 γ/g am Leben blieben, wurden die neun Tiere dieser Bestimmung nach einer Woche zu den weiteren Bestimmungen weiter verwandt.

auf, wenn ein Blutgefäß getroffen wurde: nach einigen Sekunden bildete sich ein allgemeiner Streckkrampf mit heftigsten Körperverdrehungen aus, und noch in der ersten Minute nach der Injektion trat der Tod unter Atemlähmung ein. Tiere mit derartigen Erscheinungen wurden im Ergebnis nicht mitbewertet; sie wurden in der Tabelle 1 nur als Injektionsunfall erwähnt.

Spätkrämpfe beobachtet man dagegen bei langsamer Resorption des Alkaloids. Sie begannen 2–5 Minuten nach der Injektion, nahmen rasch an Stärke zu und breiteten sich dann über den ganzen Körper aus. Die Atmung war anfangs besonders groß, dann ließen die Einatmungszüge nach, es folgten nur noch krampfhafte einzelne Ausatmungsstöße, eine halbe Minute lang oder auch länger setzte die Atmung aus, das Tier lag regungslos und reflexlos da; währenddessen war die Herztätigkeit mäßig verlangsamt und im allgemeinen kräftig; bei stärkerer Bradycardie erholten sich die Tiere

nicht mehr, sondern starben innerhalb der nächsten Minuten. Im anderen Falle setzte die Atmung plötzlich wieder ein, wurde schnell lebhaft, auch die Herzfrequenz nahm rasch zu. Verschiedentlich traten nun erneute Streckkrämpfe mit Fibrillärzuckungen, Körperverdrehungen mit Opisthotonus auf. Die meisten Tiere, die die ersten 10 Minuten überstanden hatten, überlebten endgültig; sie erholten sich nun langsam, in einzelnen Fällen dauerten die Krämpfe sogar bis zu einer Stunde an.

Wie die Vergiftungssymptome von Tag zu Tag abnahmen, kann man aus der Zahl der Krampffälle in den einzelnen Versuchsgruppen deutlich erkennen. Bei täglicher Injektion von 7 γ/g wurden unter 23 Tieren von einem Tag auf den nächsten 9, 13, 9, 5, 6, 2, 1, 0 — und nun weiter bei 8 und 9 γ g täglich — 0, 0, 0 Krampfzustände verzeichnet. Erst bei 11 γ/g wurden wieder vermehrt stärkere Krampfzustände beobachtet.

Diese Beobachtungen zeigen also, daß das Bild der akuten Nikotinwirkung im Laufe fortgesetzter Behandlung mit Nikotin deutlich schwächer wird.

Besonders gegen Ende der Versuchszeit trat ein Unterschied zwischen den täglich und den intermittierend mit steigenden Dosen behandelten Tieren deutlich hervor: die Wirkung einer einzelnen Injektion war bei den Tieren, deren Injektionen 4 Tage auseinander lagen, stärker als bei den täglich behandelten. Diese Tatsache weist auf kumulative Effekte bei den täglich behandelten Tieren hin, wobei dahingestellt bleibt, ob es sich um eine Anhäufung des Alkaloids oder nur um Anhäufung seiner Wirkungen handelt; denn wir deuten eine Minderung des Wirkungsausmaßes einer Nikotininjektion nach wiederholter Nikotingabe als Zeichen einer Intoxikation.

Die mit physiologischer Salzlösung behandelten Kontrolltiere liefen nur einige Sekunden lang etwas hochbeinig einher und verhielten sich rasch wie unbehandelte Tiere.

2. Einfluß einer Vorbehandlung mit Nikotin auf die mittlere tödliche Dosis.

Die Versuchsergebnisse sind in der Tabelle 1 wiedergegeben. Bei der graphischen Darstellung auf dem Wahrscheinlichkeitspapier gewinnt man die mittlere tödliche Dosis, die in der Tabelle 2 für die einzelnen Gruppen zusammengestellt ist. Die Tiere, die infolge unsachgemäßer Injektion oder allgemeinen Vogelsterbens zugrunde gingen, bleiben unberücksichtigt.

Die täglich mit steigenden Dosen behandelten Tiere (Gruppe 2) lieferten die niedrigsten Werte für die mittlere tödliche Dosis. Die Werte der übrigen Tiere

Tabelle 2.

Gruppe Nr.	Zahl der Tiere	Mittlere tödliche Dosis γ/g
1	26	29
2	16	23
3	22	30
4/5	46	29

mit Nikotinvorbehandlung stimmen mit dem der Kontrollen überein. Bei der Ermittlung der tödlichen Dosis tritt also ein Unterschied zwischen den täglich und den intermittierend mit steigenden Dosen behandelten Tieren deutlich hervor, der als kumulativer Effekt bei den täglich mit steigenden Nikotinmengen behandelten Vögeln zu bewerten ist.

Zusammenfassung.

1. Bei fortgesetzter Darreichung von Nikotin subcutan trat eine deutliche Gewöhnung ein, sowohl bei den Tieren, die gleichbleibend mit niederen Dosen, als auch bei denen, die mit steigenden Dosen behandelt wurden, wobei die täglich einverleibten Nikotinmengen schließlich die tödliche Dosis fast erreichten: das akute Vergiftungsbild wurde immer schwächer.

2. Die mittlere tödliche Dosis von Nikotin für Kanarienvögel wurde mit 29 γ/g gefunden.

3. Die mittlere tödliche Dosis der täglich mit steigenden Nikotinmengen behandelten Kanarienvögel lag niedriger als die mittlere tödliche Dosis der Kontrollen, die mit den Werten aller übrigen nikotinvorbehandelter Tiere übereinstimmt.

4. Die Summe aller Beobachtungen spricht für eine gewisse Kumulation des Nikotins oder seiner Wirkungen.

Literatur.

1) Lickint, F.: Tabak u. Organismus, S. 271. Hippokrates-Verlag, 1939. — 2) Werle, E.: Biochem. Z. **298**, 268 (1938). — 3) Dixon, W. E.: Heffters Hdb. Pharm. **2**, 686 (1924). — 4) Josué, O.: Bull. méd. **956** (1904); Arch. gén. méd. **81** (1904) u. a. — 5) Adler, J.: Thèse prieur Paris 1905, u. Hensel, O.: Dtsch. med. Wschr. **1906**, S. 1826. — 6) Boveri, P.: Semaines méd., Juni 1905. — 7) Baylac, M. J.: C. r. Soc. Biol. **60**, 935 (1906). — 8) Heubner, W., u. J. Papierkowski: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 605 (1938). — 9) Gaddum: Special Report Series of the Med. Research Council **183**.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. med. F. Volhard)
und dem DRK-Augusta-Hospital, Berlin
(Chefarzt: Prof. Dr. med. et phil. R. Enger).

Die Wirkung langfristiger Tyramin-Injektionen auf den Hund*.

Von

R. Enger und H. Lampas.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. Juli 1940.)

Auf Grund der Lehre Volhards von der hämatogenen Genese des blassen Hochdrucks wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt, die sich zum Ziele setzten, die Natur der beim blassen Hochdruck im Blute nachweisbaren vasoaktiven Substanzen zu klären. Wenn man die chemisch einfach gebauten Stoffe zunächst in Betracht zieht, die bei der Verdauung und im intermediären Stoffwechsel leicht entstehen können, und deren blutdrucksteigernde Eigenschaften bekannt sind, liegt die Frage nahe, wieweit das Tyramin unter pathologischen Bedingungen als körpereigene blutdrucksteigernde Substanz eine Rolle spielt. Dieses Problem ist am kranken Menschen und im Tierversuch vielfach untersucht worden. So injizierte L. Paunz Ratten und Hunden täglich je ein Jahr lang Tyramin subcutan. Er beobachtete im Laufe seiner Versuche das Auftreten einer mäßigen Blutdrucksteigerung, eine leichte Albuminurie und eine mikroskopische Hämaturie. Histologisch fand er an den Nieren Auffaserung der Elastica, hyaline Verschmelzung der Glomerulusschlingen, Exsudation in die Bowmannsche Kapsel, sowie Verdickungen des äußeren Kapselblattes, während Heinlein bei sechsmonatiger Versuchsdauer keine Veränderung im Sinne einer Gefäßschrumpfniere beobachtete. Den Nachweis von Tyramin im Blut von Kranken mit blassem Hochdruck versuchten Heinsen und Wolf mit Hilfe der Gerngroßschen 1, 2-Nitrosonaphtholreaktion, die mit zahlreichen in para-Stellung substituierten Phenolen positiv ausfällt, zu erbringen. Sie beobachteten bei einer Anzahl von Kranken mit blassem Hochdruck eine positive Gerngroßsche Reaktion in Blutextrakten und schlossen daraus, daß das Tyramin der Prototyp der pressorischen Substanzen beim blassen Hochdruck sei. Enger und Arnold fanden bei der Nachprüfung an einem großen Krankenmaterial, daß bei Anwendung des Arbeitsganges von Heinsen und Wolf im Blut von Kranken mit blassem Hochdruck die Gerngroßsche Reaktion keineswegs regelmäßig positiv ist. Außerdem wäre auch bei regelmäßig

* D 30.

positiven Ergebnissen dieser unspezifischen Farbreaktion der exakte Beweis noch zu erbringen, daß die in Frage stehende Substanz wirklich Tyramin ist.

In weiteren Untersuchungen konnten Enger und Arnold zeigen, daß bei Anwendung eines Arbeitsganges, der das Tyramin in wesentlich empfindlicherer Weise zu erfassen erlaubt als der von Heinsen und Wolf, die Zahl der positiven Ergebnisse der Gerngroßschen Reaktion im Blut von Kranken mit blassem Hochdruck noch weiter abnimmt. Auch bei Urinuntersuchungen, die Enger und Arnold bei Kranken mit rotem und blassem Hochdruck sowie bei Blutdruckgesunden vornahmen, konnten sie keine Ausschläge der Gerngroßschen Reaktion beobachten, die die Annahme gerechtfertigt hätten, daß dem Tyramin eine entscheidende Rolle bei der Entstehung des blassen Hochdrucks zukommt.

H. Robbers erhielt bei Dauerinfusionen mit hohen Tyramindosen nur eine vorübergehende Blutdrucksteigerung. Wolf und Ludolf führen dies auf eine zu niedrige Tyramindosierung zurück. Manzinini sah im Anschluß an Tyramininjektionen eine perniciosaähnliche Anämie mit erhöhtem Färbeindex, polychromatophiler Makrocytose, Megalocyten, Leukopenie und Lymphocytose auftreten. Loeper, Lemaire und Lesure führten Tyraminbestimmungen im Blute und Aszites von Leberkranken durch und beobachteten, daß der Tyraminindex mit der Schwere der Leberkrankheit steigt.

Diese kurze Übersicht über eine umfangreiche Literatur läßt erkennen, daß eine entscheidende pathogenetische Bedeutung des Tyramins beim blassen Hochdruck noch keineswegs erwiesen ist. Bei diesem Sachverhalt stellten wir uns die Aufgabe, zu untersuchen, inwieweit durch besonders langfristige und intensive Tyraminzufuhr beim Tier klinisch und anatomisch das Bild des blassen Hochdrucks hervorgerufen werden kann.

Methodik.

Unsere Versuche, die wir an 3 Hunden verschiedener Rasse und Größe durchführten, erstreckten sich über eine Zeitdauer von über $2^1/_2$ Jahren. Ein viertes Tier ging nach 6 Monaten an septischen Erscheinungen zugrunde, so daß wir die kurzfristigen Versuchsergebnisse nur beschränkt verwerten können. Immerhin ist das Untersuchungsresultat, namentlich das Sektionsergebnis und der histologische Befund von Bedeutung, denn es gibt Aufschluß über die Tyraminwirkung nach einer kürzeren Versuchszeit.

Zur Ermittlung des mittleren Blutdruckwertes ohne Tyramineinfluß stellten wir vor Beginn der Versuche 9 Tage lang den Blutdruck der Tiere fest. In den ersten 7 Monaten setzten wir den Tieren täglich intragluäal Depots von Tyramin-Durant, das uns in freundlicher Weise von der I. G. Farbenindustrie zur Verfügung gestellt wurde, und zwar begannen wir mit Tyramin-Durant-Injektionen von 10 mg Tyramin unter allmählicher

Steigerung auf etwa 1000 mg, wobei wir gleichzeitig in der Dosierung das Gewicht jedes einzelnen Tieres berücksichtigten. Diese intramuskulären Durant-Injektionen erschienen zur Durchführung unserer Versuche besonders geeignet, da wir eine dauernde und möglichst gleichmäßige Einwirkung von Tyramin auf den tierischen Organismus erstrebten, was durch die allmähliche Resorption der in Pastenform injizierten Substanz weitgehend gewährleistet schien. Zunächst vertrugen die Tiere die Einspritzungen gut; bei Steigerung der Tyraminmenge auf etwa 500–600 mg ergaben sich Schwierigkeiten in der Resorption. An den Injektionsstellen bildeten sich Abszesse und bei der Incision entleerte sich Eiter und zum Teil nicht resorbierte Substanz. Um diese Störung der Versuche zu verhindern, wechselten wir öfters die Einstichstelle und spritzten nicht nur intraglutäal, sondern auch in alle anderen verfügbaren Muskelteile, und zwar gleichzeitig kleinere Mengen an verschiedenen Stellen. Außerdem injizierten wir nunmehr zur Vermeidung von Gewebsschäden ein weniger konzentriertes Tyramin-Durant. Aber es zeigte sich bei Überschreitung einer gewissen Tyraminmenge (etwa 700–1000 mg) trotz peinlicher Anti- und Asepsis Neigung zur Abszeßbildung.

Dann ermittelten wir die äußerste Grenze der Verträglichkeit für Tyramin-Durant und injizierten, um die Dosis ohne Störung steigern zu können, neben dem Durant noch 5%ige wässerige Tyraminlösung subcutan — die Substanz wurde uns in freundlicher Weise von der Firma Hoffmann-La Roche zur Verfügung gestellt — und zwar von 200 mg an allmählich steigernd bis zu 2550, ja 3000 mg. Die Subcutaninjektionen wurden bei mehrmaliger täglicher Einverleibung gut vertragen. Durch diese kombinierten Einspritzungen konnten wir die Versuche ohne wesentliche Störungen in der Resorption zu Ende führen. Durch tastendes, über Monate sich erstreckendes Vorgehen suchten wir die Dosis zu steigern und die äußerste Verträglichkeitsgrenze zu ermitteln. Bei einer Tagesgesamtinjektionsmenge von etwa 3000–3500 mg Tyramin waren wir an der toxischen Grenze angelangt. Die dabei akut auftretenden Vergiftungserscheinungen werden in den Untersuchungsergebnissen näher zu besprechen sein.

Die Blutdruckmessung wurde fast täglich unblutig mit einem modifizierten Riva-Rocci-Apparat durchgeführt und die unblutige Methode wiederholt mit Hilfe einer in die Art. femoralis eingebundenen Kanüle blutig kontrolliert. Nach mehrmonatlichen Injektionsperioden setzten wir einige Male Tage bis Wochen mit der Tyraminzufuhr aus, um das Verhalten des Blutdrucks im injektionsfreien Intervall und während der Injektionszeit zu kontrollieren und um ihn zum Anfangswert in Beziehung setzen zu können.

Zur Prüfung der Nierenfunktion unter der Tyraminwirkung wurde alle 2 bis 3 Monate ein Konzentrationsversuch durchgeführt. Weiterhin bestimmten wir in 2–3 monatlichen Abständen die Blutwerte für Harnstoff

nach der Bromlaugemethode, sowie für Indikan und Xanthoprotein. Enger und Preuschoff erbrachten den Nachweis, daß eine verminderte Urochromausscheidung ein Frühsymptom bei diffuser Nierenschädigung darstellt. Wir bestimmten daher in Abständen von 3—4 Monaten kolorimetrisch mit einer Echtgelbvergleichslösung die Urochromausscheidung nach der von Enger und Preuschoff angegebenen Methode. Ferner kontrollierten wir den Urin auf Eiweiß und Zucker und untersuchten das Sediment.

Um uns ein Bild über die Tyraminausscheidung aus dem tierischen Organismus machen zu können, stellten wir mit Hilfe der Gerngroßschen Reaktion in der von Enger und Armold angegebenen Versuchsanordnung aus den gesammelten Urinportionen die ausgeschiedene Menge Tyramin und ähnlicher Substanzen fest.

In Abständen von 2—3 Monaten wurde der Augenhintergrund untersucht, wofür wir Herrn Prof. Dr. Gasteiger auch an dieser Stelle bestens danken möchten. Um zur Frage der Tyraminanämie Stellung nehmen zu können, machten wir mehrmals einen Blutstatus. Schließlich wurden die Beobachtungen am lebenden Tier durch den pathologisch-anatomischen Befund ergänzt, für dessen Erhebung wir Herrn Dr. Wirtz auch an dieser Stelle bestens danken.

Ergebnisse.

Bei der Betrachtung unserer Versuchsergebnisse wollen wir zunächst die unmittelbare Wirkung der Tyramininjektionen auf die Tiere besprechen. Nach subcutanen Einspritzungen von etwa 1500—2000 mg Tyramin zeigten die Tiere wenige Minuten nach der Injektion akute Vergiftungserscheinungen, die sich im Haarsträuben, starkem Speichelfluß, Erbrechen, Steigerung der Atemfrequenz, Rötung der Beine, höchste Unruhe und Umdrehungen im Kreise mit nachfolgenden Kollapszuständen äußerten. Eine weitere bemerkenswerte Beobachtung nach einmaliger subcutaner Einspritzung von 2000—2500 mg Tyramin, oder nach Überschreiten einer Tagesdosis von 2800—3000 mg Tyramin als Durant und wässerige Lösung war das Auftreten einer recht erheblichen Gesichtsschwellung, die sich mehrmals bei allen 3 Tieren — am häufigsten und eindrucksvollsten bei Hund II — zeigte und etwa 15 Minuten nach der Injektion auftrat. Namentlich die Schnauze und die Partien unter den Augen waren für 2—3 Stunden derart ödematös, daß die Tiere bis zur Unkenntlichkeit entstellt waren. Dieses Gesichtsödem konnten wir beliebig oft nach Einspritzung einer entsprechenden Menge Tyramin hervorrufen. Während der Gesichtsschwellung zeigten sich bei den Tieren die oben bereits erwähnten akuten Intoxikationserscheinungen und nach Abklingen des Ödems war erhebliche Mattigkeit und völlige Apathie zu konstatieren. Bei einer Tagestyramindosis von etwa 3000 mg war die Toxizitätsgrenze erreicht. Nach 2—3wöchentlicher Injektion dieser Menge reagierten

sämtliche Tiere mit schlechtem Allgemeinbefinden, Freßunlust, Gewichtssturz, struppigem Fell und Teilnahmslosigkeit, um sich nach Verminderung der Dosis schnell wieder zu erholen.

Nunmehr kommen wir zur Besprechung des uns besonders interessierenden Problems der langfristigen Tyramineinverleibung und seiner Auswirkung auf die Nieren und den Blutdruck. Unsere in 2—3monatlichen Abständen durchgeführten Untersuchungen über die Konzentrationsleistung der Nieren ergaben bei Hund I bei 3tägiger Trockenkost in den ersten 10 Monaten ein durchschnittliches Maximum des spezifischen Gewichtes von 1039, das sich in den folgenden 14 Monaten bei nunmehr 6tägiger Trockenernährung auf 1039 hielt. Das mittlere höchste spezifische Gewicht der letzten 7 Monate betrug bei flüssigkeitsfreier Fütterung von 5 Tagen 1035.

Bei Hund II errechneten wir in den ersten 10 Monaten bei 3tägiger Trockenernährung ein mittleres höchstes spezifisches Gewicht von 1035. In den sich anschließenden 14 Monaten betrug die Durchschnittskonzentrationsleistung trotz nunmehr 6tägigem Durstenlassens nur 1033, um in den letzten 7 Monaten bei 5 Tage langem Flüssigkeitsentzug auf einen Mittelwert von 1029 spez. Gew. abzusinken.

Bei dem Tier III wurden die Konzentrationsversuche unter den gleichen Bedingungen durchgeführt wie bei Hund I und II. Die ersten 7 Monate ergaben ein durchschnittliches höchstes spezifisches Gewicht von 1036, was nach nunmehriger 6tägiger Trockenkost sich auf 1037 steigern läßt und in der letzten 6monatigen Durchschnittsperiode 1035 beträgt.

Bei Hund IV ist die Versuchsdauer zu kurz, um irgendwelche Schlußfolgerung ziehen zu können.

Vergleichen wir nun das spezifische Gewicht der einzelnen Trockenkostversuche im Verlauf der $2^1/_2$jährigen Versuchsdauer, so ist bei Hund I und noch deutlicher bei Hund II nach Ablauf von etwa einem Jahr eine geringe Einschränkung der Variationsbreite der Nieren vorhanden, die in den folgenden $1^1/_2$ Jahren einen fortschreitenden Charakter zeigt und am Ende der Versuchsdauer eine deutliche Konzentrationsverminderung erkennen läßt. Wenn auch nach Abbruch unserer langfristigen Versuchsanordnung bei keinem der Tiere das Konzentrationsvermögen dauernd unter 1030 lag, so muß berücksichtigt werden, daß beim Hunde normalerweise wesentlich höhere spezifische Gewichte zu erzielen sind. Angesichts dieser Tatsache ist bei Hund I und II die Annahme einer Schädigung der Nierenleistung berechtigt.

Bei dem dritten Tier lassen die spezifischen Gewichtsergebnisse keine deutliche Einengung der Konzentrationsleistung der Nieren erkennen.

Der Blutdruck zeigt bei Hund I einen Ausgangswert von 128/75 und steigt auf Tyramininjektionen systolisch bis auf 187 an. Bei Aussetzen der Tyramininjektionen sinkt er wieder ab, ohne jedoch den Ausgangswert

wieder zu erreichen, so daß er auch ohne Tyramininjektionen schließlich um mehr als 20 mm Hg über dem Ausgangswert liegt. Der diastolische Blutdruckwert zeigt keine so ausgesprochenen Erhöhungen auf die Tyramininjektionen und kehrt nach Aussetzen derselben zum Ausgangswert zurück.

Hund II wies einen Anfangsblutdruck von 149/76 mm Hg auf und zeigt nach den Tyramininjektionen einen Anstieg des systolischen Blutdrucks bis auf 197 mm Hg. Bei Aussetzen der Tyramininjektionen sinkt der systolische Druck wieder ab und liegt dann noch etwa 10 mm über dem Anfangswert. Der diastolische Druck steigt auf die Tyramininjektionen um etwa 16 mm an, um nach Absetzen des Tyramins den Anfangswert annähernd zu erreichen.

Auch Hund III bietet ein ähnliches Bild des Blutdruckverlaufs während der Versuchsdauer. Der systolische Anfangsdruck von 130 mm steigt auf die Tyramininjektionen bis auf 175 mm, sinkt nach Absetzen des Tyramins ab, bleibt jedoch auch dann noch etwa 26 mm über dem Anfangswert. Der diastolische läßt keine charakteristischen Veränderungen erkennen.

Hund IV zeigt während der kürzeren Versuchsdauer unter der Tyraminwirkung einen systolischen Blutdruckanstieg von etwa 26 mm ohne Erhöhung des diastolischen Druckes.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die Tyramininjektionen eine wesentliche Erhöhung des systolischen Blutdruckes hervorrufen, die bei längerer Versuchsdauer auch nach Absetzen des Tyramins nicht wieder restlos abklingt. Dagegen zeigt der diastolische Blutdruck auf das Tyramin einen geringen Anstieg und keine bleibende Erhöhung nach dem Weglassen der Injektionen, ein Verhalten, was im Gegensatz zu der ausgesprochenen und fixierten Erhöhung des diastolischen Blutdrucks bei der malignen Sklerose des Menschen steht.

Die Urinuntersuchungen zeitigten folgende Ergebnisse: Bei Hund I war der Eiweißgehalt des Urins immer nur geringfügig oder er wurde überhaupt vermißt. Die positive Nitritreaktion bei diesem Tier deutet auf eine Coliinfektion der Harnwege hin, die jedoch keine wesentlichen Krankheitserscheinungen zur Folge hatte, was auch aus dem meist spärlichen Leukocytengehalt des Sediments hervorgeht. Zucker konnte niemals im Urin des Tieres nachgewiesen werden. Die Urochromausscheidung sinkt im Laufe des Versuches von 712 auf 540 Echtgelbeinheiten ab, was auf eine Minderung der Nierenfunktion deutet.

Bei Hund II werden ebenfalls nur geringe Eiweißmengen bzw. völliges Fehlen von Eiweiß im Urin beobachtet. Die Urochromausscheidung sinkt hier von 765 Echtgelbeinheiten zu Beginn des Versuches auf 622 am Schluß ab.

Hund III zeigt hinsichtlich der Eiweiß-, Zucker- und Nitritproben des Urins sowie des Sediments ein den beiden anderen ganz analoges Verhalten. Hier fiel die Urochromausscheidung von 890 Echtgelbeinheiten

zu Beginn auf 496 am Schluß des Versuches als empfindliches Zeichen der Minderung der Nierenleistung ab.

Ähnlich verhält sich auch Hund IV, bei dem während der kurzen Versuchsdauer die Urochromausscheidung von 925 Echtgelbeinheiten auf 760 zurückging.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die Urinuntersuchung keine charakteristischen Veränderungen des Urins während der Versuchsdauer hinsichtlich des Eiweiß- und Zuckergehaltes sowie des Sediments erkennen läßt, während die Urochromausscheidung in allen Fällen absinkt, ein neuer Beweis dafür, in welch empfindlicher Weise die Bestimmung der Urochromausscheidung Nierenfunktionsstörungen anzuzeigen vermag.

Hinsichtlich der Untersuchung des Blutes erscheint folgendes bemerkenswert: Bei Hund I schwankt der Harnstoff um Werte, die normal sind oder an der oberen Grenze der Norm liegen. Es ist jedoch keine Erhöhung des Endwertes gegenüber dem Anfangswert zu erkennen. Die Xanthoprotein- und Indikanreaktion ist dauernd negativ.

Ähnlich verhält sich auch Hund II.

Hund III weist einen Anstieg des Blutharnstoffs von 29 mg% zu Beginn des Versuches auf 41.5 am Schluß desselben. Jedoch wird auch hier die obere Grenze der Norm nicht wesentlich überschritten und eine positive Xanthoprotein- und Indikanreaktion kam niemals zur Beobachtung.

Das gleiche Bild zeigt auch Hund IV.

Die Blutharnstoffbestimmung läßt also bei keinem der Tiere einen wesentlichen Anstieg über die Grenzen der Norm erkennen, die Xanthoprotein- und Indikanreaktionen zeigen bei allen Tieren einen normalen Befund.

Die wiederholt in verschiedenen Abschnitten des Versuches bei den einzelnen Tieren hergestellten Blutbilder ergeben niemals eine wesentliche Anämie, geschweige, daß perniciosaähnliche Veränderungen gefunden wurden, wie sie Manzinini beschrieben hat.

Bei der Untersuchung des Augenhintergrundes, die häufig bei allen Tieren in den verschiedenen Abschnitten des Versuches vorgenommen wurde, konnte lediglich bei Hund II einmal im Pupillenbereich eine deutliche Kaliberschwankung der Gefäße an einem Auge nachgewiesen werden. Sonst ergaben alle übrigen Untersuchungen einen normalen Befund. Dieses Ergebnis ist um so bemerkenswerter, als Veränderungen am Augenhintergrund als Frühsymptom zu den wichtigsten Krankheitserscheinungen des blassen Hochdrucks beim Menschen gehören.

Die Ausscheidung von tyraminähnlichen Stoffen im 24 Stunden-Harn betrug bei 3 nicht vorbehandelten Hunden 130, 35 und 100 γ, im Mittel also etwa 90 γ. Nach Zufuhr von Tyramin in oben angegebener Weise schieden 3 Versuchstiere 46900, 12200 und 34700 γ, im Mittel also 31300 γ

Hund I. Beschreibung: Mischrasse, mittelgro

Zeit	Tägliche Tyraminmenge	Blutdruckwert im Durchschnitt mm Hg	Fundus	Konzentrationsvermögen der Niere
Vom 28. 6. 1935 bis 6. 7. 1935	Kein Tyramin	128/25	o. B.	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1039
Vom 8. 7. 1935 bis 1. 11. 1935	200 mg als Tyramin-Durant	167/78 (blutige Messung am 6. 9. 1935 = 172)	—	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1037
Vom 4. 11. 1935 bis 21. 11. 1935	Kein Tyramin-Durant (siehe Bemerkungen)	167/77	—	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1036
Vom 22. 11. 1935 bis 7. 12. 1935	200 mg als Tyramin-Durant	187/68	—	—
Vom 11. 12. 1935 bis 24. 1. 1936	Kein Tyramin (siehe Bemerkungen)	153/61	o. B.	—
Vom 25. 1. 1936 bis 23. 4. 1936	240—720 mg als Tyramin-Durant, 200—1500 mg als Tyraminlösung	152/65 Nach Injektion von 1240 mg Tyramin als Durant Blutdruck 235/115, Mattigkeit, Erbrechen und Freßunlust	o. B.	Urinkonzentr. na 3 Trockenkosttag = 1042
Vom 24. 4. 1936 bis 25. 8. 1936	800—1500 mg als Tyraminlösung; 240—720 mg als Tyramin-Durant; ab 11. 7. wegen erschwerter Tyramin-Durant-Resorption Konzentrationsverminderung von 0,5/1,00 auf 0,3/1,0	170/74 Während der Trockenkosttage keine Injekt.; Blutdruck dabei 169/79	—	Urinkonzentr. n 6 Trockenkostta = 1048; Urinkonzentr. n 4 Trockenkostta = 1039; Urinkonzentr. n 7 Trockenkostta = 1038

/$_2$ Jahre alt, 13 kg schwer; Allgemeinzustand: gut.

Urinuntersuchungen	Blutuntersuchungen	Bemerkungen
Eiweiß: leichte Opaleszenz Nitrit: positiv Zucker: negativ Harnfarbstoffausscheidung in 24 Stunden: 712 Echtgelbeinheiten Sediment: vereinzelt Leuko., Epithelien, viel phosphorsaurer Kalk	Leuko.: 7400 Erythroz.: 4600000 Hb: 92% Harnstoff: 38 mg% Rest-N: 30 mg% Indikan: θ, Xanth.: θ NaCl: 600 mg%	13 kg schwerer, kräftig entwickelter Hund Gute Freßlust
Eiweiß: leichte Trübung Zucker: neg. Nitrit: pos. Sediment: vereinzelte Leuko. u. Bakterien Harnfarbstoffausscheidung in 24 Stunden: 652 Echtgelbeinheiten	Harnstoff: 27 Rest-N: 39 Indik.: θ Xanth.: θ NaCl: 595	Gewicht: 13,5 kg Nach 3tägiger Injektion von 400 mg Tyramin als Durant: Speichelfluß, Mattigkeit, Haarsträuben, Abszeßbildg. an der Injektionsstelle
—	—	Wegen schlechten Allgemeinzustandes und Abszeßbildung keine Injektion vom 4. 11. bis 21. 11. 35
Harnfarbstoffausscheidung in 24 Stunden: 860 Echtgelbeinheiten	—	Gewicht: 14 kg Tier hat sich wieder gut erholt
—	—	Keine Injektionen, um das Verhalten des Blutdrucks im injektionsfreien Intervall zu beobachten
Eiweiß: Spur Nitrit: pos. Zucker: neg. Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std. 760 Echtgelbeinh. Sediment: vereinzelt Leuko., ganz vereinzelt Erythro. und Epithelien	Harnstoff: 18 Rest-N: 35 Indik.: θ Xanth.: θ NaCl: 600 Leuko.: 11000 Erythro.: 4900000 Hb: 93	Gewicht: 14,3 kg Abszeßbildung an einer Injektionsstelle. Bei Incision entleert sich Eiter und unresorb. Tyramin-Durant. Ab 3. 4. gleichzeitig 5%ige wässerige Lösung subcutan
Eiweiß: neg. Nitrit: pos. Zucker: neg. Sediment: ganz vereinzelt, Erythro. mäßig Leuko., viel Bakterien Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std. = 680 Echtgelbeinheiten	Harnstoff: 31 u. 28 Indik.: θ Xanth.: θ	Gewicht: 13 kg Mehrmals nach der Injektion starker Speichelfluß, Haarsträuben, Erbrechen, Unruhe, Tier macht einen apathischen und matten Eindruck

Hund

Zeit	Tägliche Tyraminmenge	Blutdruckwert im Durchschnitt mm Hg	Fundus	Konzentrationsvermögen der Nieren
Vom 26. 8. 1936 bis 7. 9. 1936	Kein Tyramin (siehe Bemerkungen)	152/56	—	—
Vom 8. 9. 1936 bis 19. 1. 1937	1000 mg als Tyraminlösung; 270—540 mg als Tyramin-Durant	154/69 (blutige Messung am 23. 10. = 152) Während der Trockenkosttage keine Injektionen; Blutdruckdurchschnitt dabei 158/72	—	Urinkonzentr. nach 6 Trockenkosttagen = 1036
Vom 20. 1. 1937 bis 25. 5. 1937	1500—2000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	165/65 Während der Trockenkosttage keine Injektionen; Blutdruck dabei 157/66	o. B.	Urinkonzentr. nach 6 Trockenkosttagen = 1036, 1037
Vom 26. 5. 1937 bis 28. 8. 1937	2000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	167/66	o. B.	Urinkonzentr. nach 6 Trockenkosttagen = 1040; 5 Trockenkosttagen = 1039; 4 Trockenkosttagen = 1032
Vom 29. 8. 1937 bis 9. 10. 1937	Kein Tyramin	145/62	—	—
Vom 10. 10. 1937 bis 27. 11. 1937	1000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	153/76	—	Urinkonzentr. nach 5 Trockenkosttagen = 1036
Vom 29. 11. 1937 bis 18. 12. 1937	Kein Tyramin	150/74 (blutige Messung am 11. 12. = 145)	—	Urinkonzentr. nach 5 Trockenkosttagen = 1033

rtsetzung).

Urinuntersuchungen	Blutuntersuchungen	Bemerkungen
iweiß: leichte Trübung itrit: pos. ucker: neg.	—	Gewicht: 12,5 kg Wegen schlechten Allgemeinzustandes (Freßunlust, Gewichtsabnahme) 14 Tage Schonung
iweiß: leichte Trübung itrit: pos. ucker: neg. arnfarbstoffausscheidung in 24 Std. = 720 u. 660 Echtgelbeinheiten ediment: vereinz. Erythro., Leuko.- u. harnsaure Salze, Epithelien	Harnstoff: 25 u. 54 Rest-N: 34 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 610 Leuko.: 17000 Erythro.: 5200000 Hb: 92	Gewicht: 13,5 kg Guter Allgemeinzustand Nach d. Injektionen häufig Erbrechen, Haarsträuben, starker Speichelfluß, Rötung der Läufe
iweiß: Spur itrit: pos. ucker: neg. ediment: ganz vereinzelt Erythro., mäßig Leuko., reichlich Bakterien, Epithelien u. harns. Salze arnfarbstoffausscheidung in 24 Std. = 612 Echtgelbeinheiten	Harnstoff: 43 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 610 Leuko.: 8300 Erythro.: 4500000 Hb: 90	Gewicht: 14,0 u. 13,5 kg Guter Allgemeinzustand Öfters Speichelfluß, Erbrechen, Haarsträuben nach der Injektion
weiß: neg. ucker: neg. arnfarbstoffausscheidung in 24 Std. = 590 Echtgelbeinheiten diment: ganz vereinzelt Erythro., mäßig Leuko., kohlensaurer Kalk	Harnstoff: 42 Rest-N: 38 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 580	Gewicht: 13 kg Am 23. 7. Injektion von 2000 mg Tyramin als Lösung: starker Speichelfluß, beschleunigte Atmung, Haarsträuben und erhebliches Gesichtsödem. Freßunlust, verminderte Lebendigkeit, struppiges Fell
—	Zur Kontrolle des Blutdruckes im injektionsfreien Intervall kein Tyramin	
iweiß: neg. itrit: pos. ucker: neg. ediment: mäßig Leuko. und Epithelien	Leuko.: 7800 Erythro.: 4800000 Hb.: 92% Ausstrich: Segmentk.: 66, Stabk.: 5, Lympho.: 27, Mono.: 2, Harnstoff: 24, Indikan u. Xantho.: θ	—
	Harnstoff: 39 Indikan: θ Xantho.: θ	—

Hund

Zeit	Tägliche Tyraminmenge	Blutdruckwert im Durchschnitt mm Hg	Fundus	Konzentrationsvermögen der Nieren
Vom 20. 12. 1937 bis 15. 1. 1937	1000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	152/75	o. B.	—
Vom 16. 1. 1938 bis 10. 2. 1938	Kein Tyramin	150/73 (blutige Messung am 10. 2. 1938 = 140 mg)	—	Urinkonzentr. nac 5 Trockenkosttage = 1034

aus, das etwa 350fache der Ausscheidung der normalen Tiere. Im Gegensatz dazu ist beim blassen Hochdruck des Menschen die Ausscheidung tyraminähnlicher Stoffe — wie Enger und Arnold zeigen konnten — gegenüber der Norm vermindert, ohne daß die gleichzeitige Blutuntersuchung eine Retention tyraminähnlicher Stoffe wahrscheinlich machte.

Sektionsergebnisse.

Makroskopisch wurden folgende Befunde an den einzelnen Organen erhoben.

Hund I. Leber: Die Leber ist 500 g schwer, von rotbrauner Farbe und gleichmäßiger, nicht krankhaft veränderter Konsistenz; auch sonst sind makroskopisch keinerlei pathologische Veränderungen festzustellen.

Herz: Das Gewicht beträgt 119 g, im Vergleich zur Größe des Tieres gut ausgebildeter Herzmuskel von 7 cm Länge und 5 cm Breite. Dicke der linken Ventrikelwand = 18 mm, der rechten = 6 mm. Die makroskopische Betrachtung der Klappen und Herzhöhlen ergibt keine pathologischen Befunde.

Nieren: Die rechte Niere wiegt 39,4 g, die Oberfläche ist glatt, von normaler Farbe. Die Kapsel ist leicht abziehbar. Der Längsdurchschnitt zeigt ein gut ausgebildetes Becken, unveränderte Kelche und Glomeruli. Die Rindenschicht ist leicht verbreitert. Es sind keine pathologischen Veränderungen sichtbar. Rinde und Mark sind gut voneinander zu unterscheiden.

Die linke Niere wiegt 38,4 g, die Oberfläche zeigt an einer Stelle eine leichte Einziehung, die einem Infarkt entspricht und im Durchschnitt

ortsetzung).

Urinuntersuchungen	Blutuntersuchungen	Bemerkungen
—	Leuko.: 8200 Erythro.: 5100000 Hb: 92 Ausstrich: Segmentk.: 77, Lympho.: 19, Stabk.: 3, Mono.: 1	Gewicht: 14,5 kg Guter Allgemeinzustand
Eiweiß: neg. Nitrit: neg. Zucker: neg. Sediment: mäßig Leuko., Epithelien, harnsaure Salze Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 540 Echtgelbeinh.	Leuko.: 9000 Erythro.: 4700000 Hb: 77 Harnstoff: 34 Indikan.: 0 Xantho.: 0 Ausstrich: Segment: 74, Lympho.: 24, Stabk.: 1, Eosin: 1	Unverändert guter Allgemeinzustand Gewicht: 15 kg

eine graue Vernarbung zeigt. Die Kapsel ist gut abziehbar. Die übrige Oberfläche ist glatt und von rotbrauner, normaler Farbe. Auf dem Längsdurchschnitt sind Rinde und Mark gut voneinander zu unterscheiden; das Nierenbecken ist mittelgroß, Nierenkelche und Glomeruli sind makroskopisch nicht verändert.

Hund II. Leber: Die Leber ist 600 g schwer, von rotbrauner Farbe, glatter Oberfläche und normaler Konsistenz. Der Durchschnitt zeigt makroskopisch keine pathologischen Veränderungen.

Herz: Das Gewicht beträgt 164,4 g. Die Oberfläche ist glatt. Der Herzmuskel von 10 cm Länge und 8 cm Breite ist kräftig und gut ausgebildet. Die Dicke der linken Ventrikelwand beträgt 19 mm, die der rechten 7 mm. Makroskopisch zeigen Muskel, Klappen und Herzhöhlen keine pathologischen Veränderungen.

Nieren: Die rechte Niere wiegt 43,4 g; die Oberfläche ist glatt und von rotbrauner normaler Farbe. Die Kapsel ist gut abziehbar. Die Rinde ist deutlich verbreitert und gut vom Mark zu unterscheiden. Der Längsdurchschnitt zeigt ein mittelgroßes Nierenbecken, unveränderte Kelche und Glomeruli.

Die linke Niere wiegt 44 g; die Oberfläche ist glatt, die Farbe rotbraun. Rinde und Mark sind deutlich zu unterscheiden; die Rinde ist verbreitert, die Kapsel gut abziehbar. Das Nierenbecken ist mittelgroß; Kelche und Glomeruli sind nicht krankhaft verändert.

Hund III. Leber: Die Leber ist 600 g schwer, von rotbrauner Farbe und normaler Konsistenz; makrospokisch sind keinerlei pathologische Veränderungen nachweisbar.

Hund II. Beschreibung: Große Wolfshündin von se

Zeit	Tägliche Tyraminmenge	Blutdruckwert im Durchschnitt mm Hg	Fundus	Urinkonzentrationsvermögen der Niere.
Vom 28. 6. 1935 bis 6. 7. 1935	Kein Tyramin	149/76	o. B.	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1044
Vom 8. 7. 1935 bis 1. 10. 1935	10—200 mg als Tyramin-Durant	164/77 (blutige Messung am 6. 8. 1935 = 156; unblutige Messung am 6. 8. 1935 = 160/75)	—	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1035
Vom 3. 10. 1935 bis 10. 12. 1935	200—400 mg als Tyramin-Durant. Lebendigkeit vermindert, deshalb vom 9. bis 21. keine Injektionen	173/82	—	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1035
Vom 11. 12. 1935 bis 24. 1. 1936	Kein Tyramin	190/87	o. B.	—
Vom 25. 1. 1936 bis 24. 4. 1936	720—1080 mg als Tyramin-Durant. Wegen schlechter Resorption nur an 3. 4. 360 mg als Tyramin-Durant, dazu 200 bis 800 mg als Tyraminlösung	194/85 Während der Trockenkosttage keine Injektionen, Blutdruck dabei 195/75	—	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1031
Vom 25. 4. 1936 bis 25. 8. 1936	800—2000 mg als Tyraminlösung; 320—720 mg als Tyramin-Durant. Wegen erschwerter Tyramin-Durant-Resorption Konzentrationsverminderung von 0,5/1,0 auf 0,3/1,0	185/82 Während der Trockenkosttage keine Injektion. Blutdruck dabei 190/90	—	Urinkonzentr. nac 6 Trockenkosttage = 1041; 7 Trockenkosttage = 1030
Vom 28. 8. 1936 bis 7. 9. 1936	Kein Tyramin	179/78	—	—

tem Allgemeinzustand, 3 Jahre alt, 22,5 kg schwer.

Urinuntersuchungen	Blutuntersuchungen	Bemerkungen
iweiß: leichte Trübung itrit: pos. ucker: neg. arnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 765 Echtgelbeinh. ediment: vereinz. Leuko. und Epith., phosphorsaurer Kalk	Leuko: 9400 Erythro.: 5100000 Hb: 96 Harnstoff: 38 mg% Rest-N: 30 mg% Indikan u. Xantho.: θ NaCl: 610 mg%	22,5 kg schwerer, gesunder, sehr gut entwickelter und lebendiger Hund; gute Freßlust
weiß: leichte Opaleszenz itrit: pos. ucker: neg. ediment: vereinzelt Leuko., Epithelien u. Bakterien arnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 1088 u. 720 Echtgelbeinheiten	Harnstoff: 36 u. 24 Rest-N: 31 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 610	Gewicht: 23,5 kg Infiltrate an den Injektionsstellen ohne Störung des Allgemeinbefindens
iweiß: neg. ucker: neg. arnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 1213 u. 936 Echtgelbeinheiten	Harnstoff: 23 Rest-N: 39 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 540	Gewicht: 22 u. 21,5 kg Freßlust beeinträchtigt, Haarsträuben, besonders nach den Injektionen
—	—	Keine Injektionen, um das Verhalten d. Blutdrucks im injektionsfreien Intervall zu beobachten
weiß: leichte Trübung itrit: pos. ucker: neg. arnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 826 Echtgelbeinh. ediment: vereinz. Erythro., Leuko. u. Epithelien	Harnstoff: 30 Indikan: θ Xantho.: θ Leuko.: 10200 Erythro.: 5000000 Hb: 95	Gewicht: 20 u. 21,5 kg Freßunlust, Lebendigkeit erhebl. eingeschr., Abszeßbildungen an den Injektionsstellen; bei Incision entleert sich Eiter u. unresorbiertes Tyr.-Durant; nach den Injektionen mehrmals erhebl. Schwellung des Gesichtes, insbes. der Partien unter den Augen und an der Schnauze
weiß: neg. ucker: neg. arnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 920 Echtgelbeinh. Sediment: vereinz. Erythro. näßig Leuko., zahlreiche Kristalle	Harnstoff: 42 u. 28 Indikan: θ Xantho.: θ	Gewicht: 20 kg Nach Injektion von 1500 mg Tyr. als Lösung enormes Gesichtsödem und Haarsträuben; danach Blutdruck 230/110, Urin o. B. Nach Tyr.-Einzelgabe v. 2040 mg starke Unruhe (Hund wälzt sich auf d. Boden), Speichelfluß, Gesichtsschwellung
weiß: Spur trit: pos. ucker: neg.	—	Gewicht: 21 kg Wegen schlechten Allgemeinzustandes (Freßunlust, Mattigkeit) 14 Tage Schonung

Hund

Zeit	Tägliche Tyraminmenge	Blutdruckwert im Durchschnitt mm Hg	Fundus	Urinkonzentrationsvermögen der Nieren
Vom 8. 9. 1936 bis 15. 1. 1937	1000—2000 mg als Tyraminlösung; 270—540 mg als Tyramin-Durant	180/87 (blutige Messung am 22. 10. = 164; unblutige Messung am 22. 10. = 170/80)	o. B.	Urinkonzentr. nach 6 Trockenkosttage = 1033 u. 1034. Während der Trockenkosttage keine Injektionen Blutdruck dab 182/80
Vom 16. 1. 1937 bis 25. 5. 1937	2000—3000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	195/81 Während d. Trockenkosttage keine Injektionen. Blutdruck während der Zeit 195/85	—	Urinkonzentr. nach 6 Trockenkosttage = 1033 u. 1034
Vom 26. 5. 1937 bis 28. 8. 1937	2500 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	196/90	o. B.	Urinkonzentr. nach 6 Trockenkosttage = 1027, 5 Trockenkosttage = 1025 u. 1027
Vom 29. 8. 1937 bis 9. 10. 1937	Kein Tyramin	165/72	—	—
Vom 10. 10. 1937 bis 27. 11. 1937	1000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	167/82	—	Urinkonzentr. nach 5 Trockenkosttage = 1030
Vom 28. 12. 1937 bis 18. 12. 1937	Kein Tyramin	158/81 (blutige Messung am 11. 12. = 148)	—	Urinkonzentr. nach 5 Trockenkosttage = 1032
Vom 20. 12. 1937 bis 15. 1. 1938	1000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	162/80	o. B.	—
Vom 16. 1. 1938 bis 10. 2. 1938	Kein Tyramin	156/78 (blutige Messung am 10. 2. = 150)	—	Urinkonzentr. nach 7 Trockenkosttage = 1039

ortsetzung).

Urinuntersuchungen	Blutuntersuchungen	Bemerkungen
iweiß: Spur itrit: pos. ucker: neg. arnfarbstoffausscheidung in 4 Std.: 890 Echtgelbeinh. diment: mäßig Leuko. und Epithelien, harnsaure Salze	Harnstoff: 25 u. 40 Rest-N: 31 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 580 Leuko.: 8300 Erythro.: 4600000 Hb: 95 Ausstrich: Stabk.: 4, Lympho.: 30, Segm.: 63, Eosin: 3	Gewicht: 20 bis 23,0 kg Gute Freßlust, aber ängstlich, müde und apathisch. Allgemeinzustand gebessert, nach den Injektionen häufig Gesichtsödem, Speichelfluß, Haarsträuben u. Erbrechen
iweiß: neg. ucker: neg. itrit: pos. diment: ganz vereinzelt Erythro., mäßig Leuko., Bakterien, harnsaure Salze arnfarbstoffausscheidung in 4 Std. = 870 Echtgelbeinh.	Harnstoff: 18 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 580 Leuko.: 9400 Erythro.: 4800000 Hb: 96	Gewicht: 22 kg Freßlust gut. Trotzdem mäßiger Allgemeinzustand (struppiges Fell)
iweiß: neg. ucker: neg. diment: vereinz. Erythro., mäßig Leuko., oxals. Kalk arnfarbstoffausscheidung in Std. = 670 Echtgelbeinh.	Harnstoff: 32 u. 37 Rest-N: 36 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 590	Gewicht: 21,5 kg Tier zeitweise sehr ängstlich u. teilnahmslos. Am 15. 7. nach Injektion von 2500 mg starkes Gesichtsödem, Speichelfluß, Haarsträuben und Erbrechen
—	—	Zur Kontrolle des Blutdrucks im injektionsfreien Intervall kein Tyramin
iweiß: neg. itrit: pos. ucker: neg. iment: vereinzelt Leuko. u. Epithelien., harnsaure Salze	Leuko.: 17000 Erythro.: 4700000 Hb: 88 Färbeindex: 0,94 Ausstrich: Stabk. 2, Segm.: 80, Lympho.: 16, Eos.: 12	Gewicht: 22,5 kg Sehr guter Allgemeinzustand
—	Harnstoff: 24 Indikan: θ Xantho.: θ	—
—	Leuko.: 8300 Erythro.: 4600000 Hb: 95 Ausstrich: Segment: 63, Lympho.: 30, Stabk.: 4, Eosin: 3	Gewicht: 21,5 kg Unveränderter guter Allgemeinzustand
iweiß: neg. itrit: neg. ucker: neg. dim.: ganz vereinz. Erythro., mäßig Leuko. u. Epithelien arnfarbstoffausscheidung in 4 Std. = 622 Echtgelbeinh.	Leuko.: 7400 Erythro.: 5080000 Hb: 83 Ausstrich: Segment: 57, Lympho.: 40, Eosin: 2, Stabk.: 1, Harnstoff: 33, Indikan u. Xantho.: θ	Gewicht: 21,5 kg Guter Allgemeinzustand

Hund III. Beschreibung: Jagdhund von gut

Zeit	Tägliche Tyraminmengen	Blutdruckwert im Durchschnitt mm Hg	Fundus	Konzentrationsvermögen der Niere
Vom 28. 6. 1935 bis 6. 7. 1935	Kein Tyramin	130/82	o. B.	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1032
Vom 8. 7. 1935 bis 1. 10. 1935	10—100 mg als Tyramin-Durant	153/74 (blutige Messung am 6. 9. = 166,; unblutige Messung am 6. 9. = 163/75)	—	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1034, 1041, 10
Vom 3. 10. 1935 bis 10. 12. 1935	150—200 mg als Tyramin-Durant; vom 10.—21. 11. keine Injektionen	162/72	—	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1036
Vom 11. 12. 1935 bis 24. 1. 1936	Kein Tyramin-Durant	151/72	o. B.	—
Vom 25. 1. 1936 bis 27. 4. 1936	500—800 mg als Tyramin-Durant; ab 3. 4. wegen schlechter Resorption nur 160 bis 360 mg als Tyramin-Durant und 200 bis 800 mg als 5%ige Tyraminlösung	154/69 Während der Trockenkosttage keine Injektionen, Blutdruck dabei 150/61	o. B.	Urinkonzentr. nac 3 Trockenkosttage = 1031 u. 1039
Vom 28. 4. 1936 bis 22. 8. 1936	720 mg als Tyramin-Durant; 800—2000 mg als Tyraminlösung; ab 11. 7. wegen schlechter Resorption des Tyramin-Durant Konzentrationsverminderung von 0,5/1,0 auf 0,3/1,0	169/73 Während der Trockenkosttage keine Injektionen, Blutdruck dabei 174/80	—	Urinkonzentr. nac 6 Trockenkosttage = 1044 u. 1036
Vom 23. 8. 1936 bis 7. 9. 1936	Kein Tyramin	160/70	o. B.	—

Allgemeinzustand, 5 Jahre alt, 17 kg schwer.

Urinuntersuchungen	Blutuntersuchungen	Bemerkungen
Eiweiß: Spur Nitrit: pos. Zucker: neg. Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std. = 890 Echtgelbeinh. Sediment: vereinz. Leuko. u. Erythro., phosphors. Kalk	Leuko: 9900 Erythro.: 4300000 Hb: 89 Harnstoff: 29 mg% Rest-N: 31 mg% Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 590 mg%	Gut entwickelter gesunder Jagdhund, gute Freßlust
Eiweiß: leichte Opaleszenz Nitrit: pos. Zucker: neg. Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 1080 und 798 Echtgelbeinheiten Sediment: vereinz. Leuko., Epithelien und Bakterien	Harnstoff: 27 u. 51 Rest-N: 36 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 610	Gewicht: 19 kg Keine Störung des Allgemeinbefindens. Mehrmals Infiltrate an den Einstichstellen; infolgedessen mußte v. 21. 9. bis 1. 10. mit den Injektionen ausgesetzt werden
Eiweiß: neg. Zucker: neg. Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 458 u. 876 Echtgelbeinheiten	Harnstoff: 25 Rest-N: 33 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 530	Gewicht: 17,5 kg Allgemeinzustand gut. Nach einmaliger Injektion von 400 mg Tyramin: starker Speichelfluß, Mattigkeit ($^3/_4$ Std. lang)
—	—	Keine Injektionen, um das Verhalten des Blutdruckes im injektionsfreien Intervall zu beobachten
Eiweiß: neg. Nitrit: pos. Zucker: neg. Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 727 Echtgelbeinh. Sediment: mäßig Leuko. und Epithelien	Harnstoff: 36 Indikan: θ Xantho.: θ Leuko.: 12300 Erythro.: 4200000 Hb: 88	Gewicht: 20,5—18 kg Mehrmals Abszesse an den Injektionsstellen; es entleert sich Eiter und nichtresorbiertes Tyramin-Durant. Allgemeinbefinden u. Freßlust für einige Tage schlecht
Eiweiß: leichte Opaleszenz Nitrit: pos. Zucker: neg. Sedim.: mäßig Leuko., Epith. u. harns. Kalk, harns. Salze Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 812 Echtgelbeinh.	Harnstoff: 32 u. 36 Indikan: θ Xantho.: θ	Gewicht: 17,5 kg Bei Injekt. v. etwa 2000 mg Tyramin täglich zeigt sich Speichelfluß, starke Unruhe, Erbrechen, Haarsträuben; Tier ist matt, scheu und apathisch
Eiweiß: Spur Nitrit: pos. Zucker: neg.	—	Gewicht: 16 kg Allgemeinzustand erheblich herabgesetzt (Gewichtsabnahme, Appetitlosigkeit und Mattigkeit)

Hund II

Zeit	Tägliche Tyraminmenge	Blutdruckwert im Durchschnitt mm Hg	Fundus	Konzentrationsvermögen der Nieren
Vom 8. 9. 1936 bis 29. 1. 1937	1000—1500 mg als Tyraminlösung; 360—540 mg als Tyramin-Durant	162/68 (blutige Messung am 23. 10. = 145; unblutige Messung am 23. 10. = 150/70)	o. B.	Urinkonzentr. nach 6 Trockenkosttagen = 1033 u. 1035
Von 1. 2. 1937 bis 25. 5. 1937	1500—2000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	168/67 Während der Trockenkosttage keine Injektionen, Blutdruck dabei 161/66	o. B.	Urinkonzentr. nach 6 Trockenkosttagen = 1037 u. 1036
Vom 26. 5. 1937 bis 26. 8. 1937	2000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	165/65	o. B.	Urinkonzentr. nach 6 Trockenkosttagen = 1038, 5 Trockenkosttagen = 1037 u. 1035
Vom 27. 8. 1937 bis 9. 10. 1937	Kein Tyramin	150/61	—	—
Vom 10. 10. 1937 bis 27. 11. 1937	1000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	155/76	—	Urinkonzentr. nach 5 Trockenkosttagen = 1030
Vom 29. 11. 1937 bis 18. 12. 1937	Kein Tyramin	156/82 (blutige Messung am 11. 12. = 158; unblutige Messung am 11. 12. = 160/80)	—	—
Vom 20. 12. 1937 bis 15. 1. 1938	1000 mg als Tyraminlösung; 540 mg als Tyramin-Durant	158/79	o. B.	Urinkonzentr. nach 5 Trockenkosttagen = 1037

Fortsetzung).

Urinuntersuchungen	Blutuntersuchungen	Bemerkungen
Eiweiß: neg. Zucker: neg. Nitrit: pos. Sediment: ganz vereinzelt Erythro., mäßig Leuko. u. Epithelien, Oxalate. Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 610 Echtgelbeinh.	Harnstoff: 24,4 u. 39 Rest-N: 33 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 610 Leuko.: 12000 Erythro.: 5200000 Hb: 99% Ausstrich: Stabk.: 2, Lympho.: 26, Segment: 68, Mono.: 1, Eos.: 3	Während der Trockenkosttage keine Injektionen. Dabei hielt sich der Blutdruck auf 161/65. Tier hat sich gut erholt; gute Freßlust. Gewicht: 17,0—16,5 kg. Öfters nach den Injektionen starker Speichelfluß, Haarsträuben, Erbrechen, Unruhe
Eiweiß: neg. Zucker: neg. Sediment: mäßig Leuko. u. Epithelien, harnsaure Salze Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 570 Echtgelbeinh.	Erythro.: 4900000 Leuko.: 11000 Hb: 96 Harnstoff: 24 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 620	Gewicht: 17,5 kg Zunächt unveränderter Allgemeinzustand, gute Freßlust. Tier ist später matt; struppiges Fell
Eiweiß: Spur Nitrit: pos. Zucker: neg. Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 490 Echtgelbeinh. Sediment: ganz vereinzelt Erythro., reichl. Leuko. u. Epithelien	Harnstoff: 29 u. 36 Rest-N: 33 Indikan: θ Xantho.: θ NaCl: 580	Gewicht: 18 kg Zunächst guter Ernährungs- und Kräftezustand. Nach einmaliger Injektion von 2500 mg Tyramin starke Anschwellung des Gesichtes, insbes. der Schnauze, Speichelfluß, Erbrechen. Tier später ängstlich, scheu und teilnahmslos
—	—	Kein Tyramin, um das Verhalten des Blutdrucks in injektionsfreiem Intervall zu beobachten
Eiweiß: Spur Nitrit: pos. Zucker: neg. Sediment: mäßig Leuko. und Epithelien, harnsaure Salze	Leuko.: 11000 Erythro.: 4800000 Hb: 87 Färbeindex: 0,90 Ausstrich: Stabk.: 4, Segment: 62, Lympho.: 33, Eos.: 1	Gewicht: 19,0 kg Guter Allgemeinzustand, gute Freßlust
—	Harnstoff: 42 Indikan: θ Xantho.: θ	
—	—	Allgemeinbefinden unverändert gut

Hund II

Zeit	Tägliche Tyraminmenge	Blutdruckwert im Durchschnitt mm Hg	Fundus	Konzentrationsvermögen der Nieren
Vom 10. 1. 1938 bis 16. 2. 1938	Kein Tyramin	156/73 (blutige Messung am 10. 2. 1938 = 150)	—	Urinkonzentr. nach 5 Trockenkosttagen = 1036

Herz: Das Gewicht beträgt 122,6 g. Die Oberfläche ist glatt. Gut ausgebildeter Herzmuskel von 10 cm Länge und 7,5 cm Breite. Die Dicke der linken Ventrikelwand beträgt 16 mm, die der rechten 12 mm. Der Muskel zeigt keine pathologischen Veränderungen. Sämtliche Klappensegel lassen Einziehungen, Schrumpfungsvorgänge und stecknadelkopfgroße Knötchenbildungen an den Schließungsrändern erkennen.

Nieren: Die rechte Niere wiegt 44,8 g. Ihre Oberfläche zeigt an mehreren Stellen etwa erbsengroße Einziehungen, die grauweiß verfärbt sind und auf dem Durchschnitt grauweiße narbige Veränderungen darstellen, die Infarktstellen entsprechen. Die Kapsel ist schwer abziehbar. Rinde und Mark sind voneinander zu unterscheiden. Das Nierenbecken ist mittelgroß. Kelche und Glomeruli sind makroskopisch nicht verändert.

Das Gewicht der linken Niere beträgt 42,7 g. Ihre Oberfläche zeigt einen der rechten Niere ähnlichen Befund. Die in nicht so reichlichem Maße wie rechts vorhandenen Einziehungen sind als abgelaufene Infarkte zu deuten. Nierenbecken, Kelche und Glomeruli zeigen keine pathologischen Veränderungen.

Hund IV. (Nach sechsmonatlicher Versuchsdauer eingegangen.)

Gewicht der Organe:

Leber	492 g
Herz	140 g
Rechte Niere	53 g
Linke Niere	57 g

Makroskopisch war außer einer deutlichen linksseitigen Herzhypertrophie und der Größe der Nieren, an Leber, Herz und Nieren kein bemerkenswerter Befund zu erheben.

Histologische Untersuchungsergebnisse der einzelnen Organe.

Hund I. Leber: Leberzellbälkchen durch ein zellarmes Ödem auseinandergedrängt. Diffuse feintropfige Verfettung der Leber.

Fortsetzung).

Urinuntersuchungen	Blutuntersuchungen	Bemerkungen
Eiweiß: neg. Nitrit: pos. Zucker: neg. Sediment: vereinz. Leuko. u. harnsaure Salze Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 496 Echtgelbeinh.	Harnstoff: 41,5 Indikan u. Xantho.: θ Leuko.: 11000 Erythro.: 4660000 Hb: 88 Ausstrich: Segment: 66, Lympho.: 23, Eosin: 4, Stabk.: 2, Mono.: 2, Mastzellen: 3	Gewicht: 19,0 kg Guter Allgemeinzustand, gute Freßlust

Herz: Hyaline Verdickung der Wandung einer kleinen Arterie mit Schwund der Muskulatur. Im Elasticapräparat Aufsplitterung der Elastica interna mit polsterartiger Wucherung von elastischen Fasern innerhalb derselben. Auffallend wabige Struktur der Muscularis zahlreicher kleinerer Arterien. Herzmuskel selbst ohne erkennbare Veränderungen. Aorta: Normale Schichtung der elastischen Fasern.

Nieren. Rechte Niere: Der histologische Aufbau der Niere ist normal. Sehr gleichmäßig finden sich in allen Glomeruli Ablagerungen hyaliner Massen in den Wandungen der Schlingen, die zu Verklumpung und Verödung ganzer Schlingenläppchen geführt haben. Die Zahl der erhaltenen Schlingenlumina ist entsprechend reduziert, die erhaltenen Schlingen sind reichlich mit Erythrocyten gefüllt. Die Zahl der Kerne im Glomerulus ist aber vermindert. An einzelnen Glomeruli ist das Grundhäutchen der Bowmannschen Kapsel durch die gleichen hyalinen Massen verbreitert, die meisten Kapseln sind völlig o. B. Die vorgeschalteten V. afferentia sind bis auf einzelne mit gering hyalin verdickter Wandung ohne Einengung des Lumens o. B. Die mittelgroßen Arterien erscheinen muskelstark. Starke Verfettung der aufsteigenden Teile der Schleifen. Keine doppelbrechenden Fette. Amyloidfärbung negativ.

Beurteilung.

Die Veränderungen in den Glomeruli ähneln am meisten denen bei Ablagerung von Amyloid, jedoch ohne die typische Metachromasie aufzuweisen.

Nebenniere: Auf vorliegendem Schnitt keine pathologischen Veränderungen zu erkennen.

Gehirn: Hypophyse. Gehirnarterien ohne Besonderheiten, Hypophyse auf dem vorliegenden Schnitt nicht sicher zu beurteilen. Vermehrung der basophilen Zellen an einem Pol?

Der Veranschaulichung der geschilderten histologischen Befunde sollen einige Mikrophotogramme dienen (s. Abb. 1 und 2).

Hund IV. Beschreibung: Mittelgroßer Schäferhund vo

Zeit	Tägliche Tyraminmenge	Blutdruckwert im Durchschnitt mm Hg	Fundus	Konzentrationsvermögen der Nieren
Vom 28. 6. 1935 bis 6. 7. 1935	Kein Tyramin	147/84	o. B.	Urinkonzentr. nach 3 Trockenkosttagen = 1044
Vom 8. 7. 1935 bis 1. 10. 1935	10—200 mg als Tyramin-Durant	165/75 (blutige Messung am 6. 9. = 160; unblutige Messung am 6. 9. = 165/75	—	Urinkonzentr. nach 3 Trockenkosttagen = 1032 u. 1031
Vom 3. 10. 1935 bis 10. 12. 1935	200 mg als Tyramin-Durant	168/76 keine Injektionen während der Trockenkostperiode. Blutdruck dabei 165/70	—	Urinkonzentr. nach 3 Trockenkosttagen = 1041
Vom 11. 12. 1935 bis 24. 1. 1936	Kein Tyramin	165/69	o. B.	—
Vom 25. 1. 1936 bis 29. 1. 1936	320—720 mg als Tyramin-Durant	154/58	o. B.	—

Hund II. Leber: Geringe feintropfige Verfettung.

Herz: An einer mittelgroßen Arterie kollagen-elastinöse Verdickung der Elastica interna mit Einengung des Lumens. Die übrigen Arterien o. B.

Nieren: Rechte Niere: Aufbau der Niere normal. An den meisten Glomeruli sind die Schlingen untereinander verklebt, leicht gefeldert. Die Schlingenwandungen erscheinen vielfach etwas verbreitert; keine Kernvermehrung. Ganz vereinzelt Eiweiß im Kapselraum. Die Basalmembranen der Bowmannschen Kapsel sind vielfach gleichmäßig verdickt. Die Arterien sind fest kontrahiert mit normaler Elastica interna

usreichendem Allgemeinzustand, 4 Jahre alt, 15 kg schwer.

Urinuntersuchungen	Blutuntersuchungen	Bemerkungen
Eiweiß: leichte Opaleszenz Nitrit: pos. Zucker: neg. Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 925 Echtgelbeinh. Sediment: vereinz. Leuko. u. Epithelien, phosphors. Kalk	Leuko.: 10400 Erythro.: 4400000 Hb: 96% Harnstoff: 15 mg% Rest-N: 30 mg% NaCl: 610 mg% Indikan: θ Xantho.: θ	15 kg schwerer gesunder Hund; gute Freßlust
Eiweiß: Spur Nitrit: pos. Zucker: neg. Sediment: reichl. Leuko. und Epithel., massenhaft kohlensaurer Kalk Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 880 u. 608 Echtgelbeinheiten	Harnstoff: 33 u. 21 Rest-N: 34 mg% NaCl: 640 mg% Indikan: θ Xantho.: θ	Gewicht: 16,5 u. 18,0 kg Sehr guter Ernährungs- und Kräftezustand. Hund verträgt die Injektionen gut
Eiweiß: leichte Opaleszenz Nitrit: pos. Zucker: neg. Harnfarbstoffausscheidung in 24 Std.: 960 u. 760 Echtgelbeinheiten Sediment: reichl. Leuko. u. Epithelien	Harnstoff: 41 Rest-N: 33 mg% NaCl: 590 mg% Indikan: θ Xantho.: θ	Gewicht: 17,5 u. 18 kg Nach einmaliger Injektion v. 400 mg Tyr. starker Speichelfluß, Haarsträuben, Mattigkeit. Vom 9. 11. bis 21. 11. kein Tyramin wegen herabgesetzten Allgemeinzustandes
—	—	Gewicht: 20,5 kg Keine Injektionen, um das Verhalten des Blutdrucks im injektionsfreien Intervall zu beobachten
Eiweiß: neg. Nitrit: pos. Zucker: neg. Sediment: reichl. Leuko., Epithelien und harnsaure Salze	—	Gewicht: 16 kg. Abszeßbildung an der Injektionsstelle. Am 24. 2. Incision; es entleert sich nicht resorbiertes Tyramin-Durant und Eiter. Allgemeinzustand wird täglich schlechter. Am 2. 3. 1936 exitus letalis

und relativ kräftiger Muscularis. Fettablagerung in den aufsteigenden Schleifen.

Beurteilung.

Die Veränderungen sind gleichartig denen bei Hund I, jedoch graduell wesentlich geringer.

Nebenniere: Auf dem vorliegenden Schnitt sind keine pathologischen Veränderungen zu erkennen.

Gehirn: Gehirnarterien o. B. Bei Hund II beobachtete Veränderungen geben die Abb. 3 und 4 wieder.

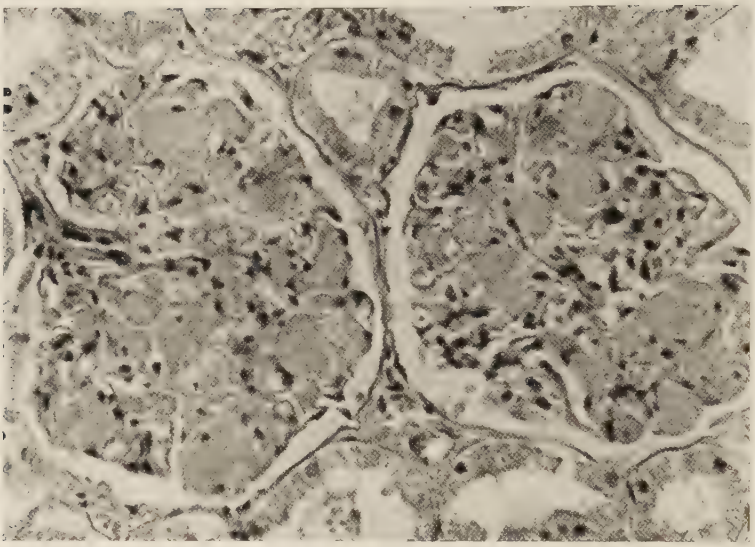


Abb. 1.

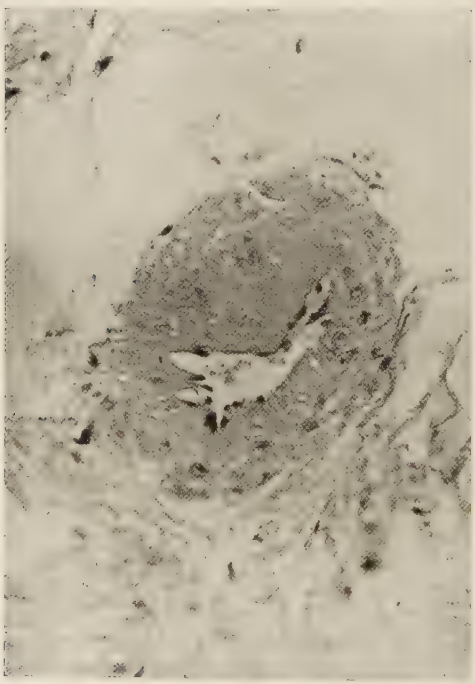


Abb. 2.

Hund III. Herz: An einer mittelgroßen Arterie starke polsterartige Verdickung der Elastica interna durch vorwiegend elastische Fasern.

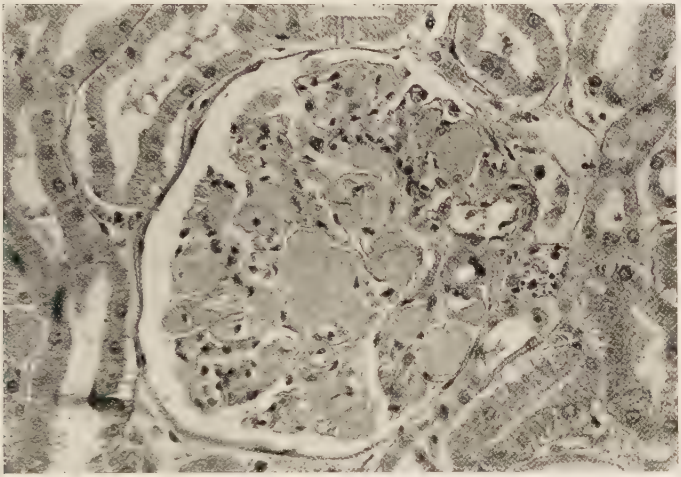


Abb. 3.

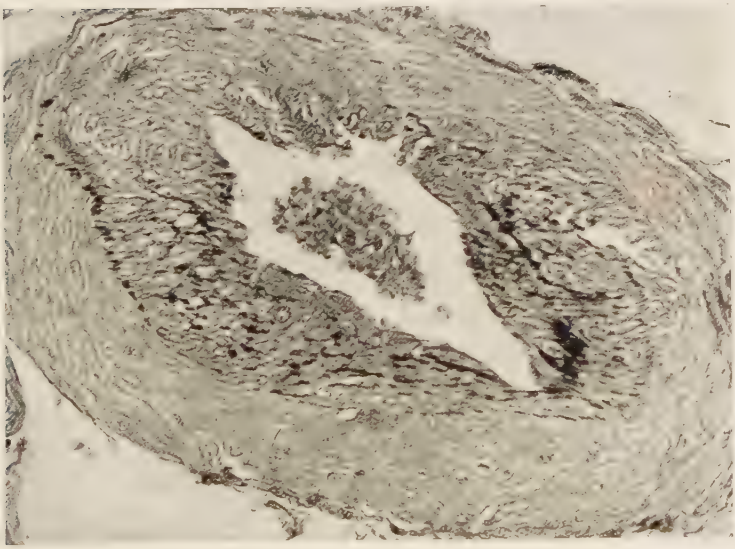


Abb. 4.

Lumeneinengung. Aufsplitterung der Elastica an einer kleineren Arterie. Keine Herzmuskelveränderungen.

Nieren: Rechte Niere: An dieser Niere sind die Schlingenwandungen gering hyalin verdickt, die Veränderungen jedoch noch geringer als bei

Hund II. Nur ganz vereinzelt geringe homogene Verdickungen des Grundhäutchens der Bowmannschen Kapsel. Verfettung der Schleifen, vor allem der Mark-Rindengegend.

Beurteilung.

Die Veränderungen gleichen denen bei Hund II, sind jedoch erheblich geringer.

Gehirn: Die Gehirnarterien sind o. B.

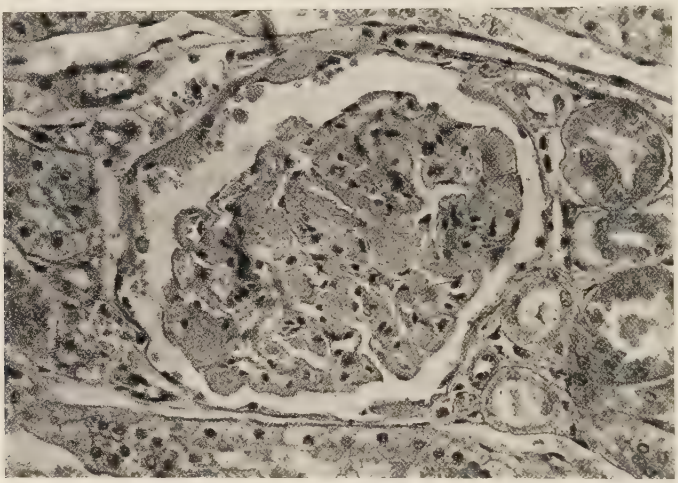


Abb. 5.

Hund IV. Nieren: Linke Niere: In allen Glomeruli sind deutliche Verquellungen der Schlingenwandungen. Die Lumina sind z. T. nicht mehr zu erkennen, z. T. sind die Schlingen gebläht. Zwischen den Schlingen und in den Kapselräumen häufig körnige Eiweißgerinsel. Eine Kernvermehrung läßt sich mit Sicherheit nicht feststellen. Die Bowmannschen Kapseln sind zart. Die Wandverquellung betrifft auch die Eintrittsstelle der V. afferentia, ohne daß bei denselben im weiteren Verlauf pathologische Befunde nachweisbar wären. Die übrigen Gefäße sind o. B. Nur an einer Art. interlob. ist an einer Stelle die Struktur der Media samt den Muskelkernen nicht mehr zu erkennen. Außerhalb dieser Stelle eine Ansammlung von Rundzellen. Keine Fettablagerung

Die histologische Untersuchung der Bulbi sämtlicher Tiere ergab in allen Teilen keine Anzeichen für irgendeine krankhafte Veränderung. Insbesondere die Gefäße zeigten normales Verhalten. In der Netzhaut war stellenweise eine Verwerfung der Schichten, Schrumpfung einzelner Schichten, Veränderung der Stäbchen und Zapfen zu finden; diese Veränderungen sind aber als postmortal anzusehen.

Zusammenfassung der histologischen Untersuchungsergebnisse.

Keine Herzmuskelveränderungen. Die Gefäße zeigen Aufsplitterung der Elastica und gleichzeitige Verdünnung der Muscularis, ähnlich der herdförmigen Arteriosklerose. An den Nieren finden sich degenerative Veränderungen an den Glomerulusschlingen im Sinne einer Hyalinose ohne entzündliche Erscheinungen. Gefäße sind kaum verändert. Der histologische Befund unterscheidet sich also wesentlich von dem beim blassen Hochdruck des Menschen. Veränderungen im Sinne einer Retinitis angiospastica sind nicht vorhanden.

Zusammenfassung.

In einer Versuchsdauer von 2 zu $2^1/_2$ Jahren injizierten wir Hunden fast täglich Tyramin, um den Einfluß dieses vasoaktiven Stoffes auf den tierischen Organismus näher kennenzulernen und um der Frage näherzukommen, ob das Tyramin bei der Entstehung des blassen Hochdruckes beim Menschen eine ausschlaggebende Rolle spielt. Durch mehrmalige tägliche subcutane Tyramininjektionen und durch gleichzeitige Anlegung intramuskulärer Depots suchten wir unter allmählicher Steigerung der Dosis bis zur äußersten Grenze der Verträglichkeit eine Dauereinwirkung von Tyramin auf den tierischen Organismus zu erzielen.

Wir fanden, daß bei einer täglich injizierten Menge von etwa 3000 mg Tyramin sich akute Intoxikationserscheinungen zeigten, unter denen ein starkes Gesichtsödem besonders auffiel.

Es konnte bei 2 Tieren am Ende der Versuchsdauer eine deutliche Einschränkung der Konzentrationsfähigkeit der Nieren im Vergleich zum Ausgangswert festgestellt werden.

Der systolische Blutdruck war bei Abschluß der Versuche deutlich erhöht im Vergleich zum Anfangswert, auch etwas im injektionsfreien Intervall, während der diastolische Druck unbeeinflußt blieb.

Die Bestimmung der Urochromausscheidung zeigte in allen Fällen eine allmähliche Erniedrigung der Werte, um bei Abbruch der Versuche am tiefsten zu liegen, eine Tatsache, die im Sinne einer Funktionseinschränkung der Nieren spricht.

Alle sonstigen Urinuntersuchungen waren ohne pathologische Besonderheiten. Die Blutkontrollen auf harnpflichtige Substanzen bewegten sich in normalen Grenzen. Mehrfach angefertigte Blutbilder ergaben immer normale Werte, und eine perniciosaähnliche Anämie konnte in keinem Falle festgestellt werden. Die Untersuchung des Augenhintergrundes zeigte jedesmal einen normalen Befund.

Die Ausscheidung von tyraminähnlichen Stoffen nach Zufuhr von Tyramin betrug das Vielfache der Ausscheidung der normalen Tiere. Im Gegensatz dazu ist beim blassen Hochdruck des Menschen die Ausscheidung dieser Stoffe gegenüber der Norm vermindert.

Die makroskopischen Sektionsbefunde ließen keine gröberen krankhaften Veränderungen erkennen. Histologisch zeigten die Gefäße Abweichungen, wie sie bei der herdförmigen Arteriosklerose gefunden werden, und die Nierenuntersuchung ließ ein Bild im Sinne einer Hyalinose erkennen, es konnten aber niemals die typischen Veränderungen festgestellt werden, wie sie bei der malignen Sklerose des Menschen gefunden werden. Unsere Untersuchungen erbringen also keinen Beweis für die Anschauung, daß dem Tyramin bei der Entstehung des blassen Hochdrucks eine ausschlaggebende Bedeutung zukommt.

Literatur.

Enger, R., u. P. Preuschoff: Dtsch. Arch. klin. Med. **175**, (1933). — Enger, R., u. H. Arnold: Z. Klin. Med. **130** (1936); **131** (1937); **132** (1937). — Heinlein, H.: Verh. dtsch. path. Ges. 1936. — Heinsen, H. A., u. H. J. Wolf: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **47** (1935). — Heinsen, H. A., u. H. J. Wolf: Z. klin. Med. **128** (1935). — Loeper, M., Lemaire u. A. Lesure: Bull. soc. méd. Hôp. Paris **3**, 53 (1937). — Manzinini, C.: Boll. Soc. ital. biol. sper. **11** (1936). — Paunz, L.: Z. exper. Med. **94** (1933). — Robbers, H.: Klin. Wschr. **1936**, Nr. 10. — Volhard, F.: In Mohr-Staehelin III, 2. Berlin, Julius Springer, 1918; in Bergmann-Staehelin VI. Berlin, Julius Springer, 1931. — Wolf, H. J., u. K. Ludolf: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186** (1937).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.

Beiträge zur Differenzierung der pharmakologischen Wirkungen von Stoffen der Digitalisgruppe.

II. Vergleich der Wirkung von Gitoxigenin und Desazetyloleandrin auf das Elektrokardiogramm der Katze.

Von

Richard Walther.

Mit 10 Textabbildungen.*

(Eingegangen am 11. August 1940.)

Die erste Mitteilung[1] brachte einen Vergleich zwischen der Wirkung von Digitoxigenin und Digitoxin auf das Elektrokardiogramm der Katze. Die Versuche ergaben einen Unterschied zwischen diesen beiden Stoffen: Bei der intravenösen Infusion von Digitoxigenin waren die Sinusbradykardie und die Verlängerung der Überleitungszeit stärker ausgeprägt und zu einem früheren Zeitpunkt zu beobachten, ferner kam die AV-Dissoziation früher zustande als bei Infusion von Digitoxin. Es wurde in dieser Mitteilung darauf hingewiesen, daß dieser Unterschied der Wirkung zwischen Digitoxigenin und Digitoxin vielleicht auf allgemeingültige Verschiedenheiten des Wirkungsmechanismus herzwirksamer Genine und ihrer entsprechenden Glykoside hindeuten könne.

In der vorliegenden Mitteilung haben wir uns deshalb die Aufgabe gestellt, mit derselben Versuchsanordnung ein anderes Genin der Digitalisgruppe mit einem zugehörigen Glykosid vergleichend zu untersuchen. Als Genin wählten wir das Gitoxigenin. Von den zur Gegenüberstellung in Frage kommenden Glykosiden war das Gitoxin für die beabsichtigten Versuche wegen seiner Schwerlöslichkeit wenig geeignet. Wir nahmen an seiner Stelle das Desazetyloleandrin[2].

A. Experimenteller Teil.

I. Versuchsanordnung.

Die in der I. Mitteilung beschriebene Versuchsanordnung wurde ohne Abänderung auch bei diesen Untersuchungen angewandt. Die zu vergleichenden Stoffe wurden bei Katzen in leichter Äthernarkose intravenös nach Hatcher-Magnus infundiert, wobei gleichzeitig in kurzen Abständen die Veränderungen im Elektrokardiogramm registriert wurden.

* Aus äußeren Gründen mußte die Zahl der Abbildungen beschränkt werden.

[1] Walther, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 709 (1940). — [2] Neumann, W., u. W. Lindner: Ebenda **185**, 630 (1937).

Tabelle 1. Veränderungen im Elektrokardiogra

Lfd. Nr.	Tier Nr.	Tier-gewicht in kg	Dosis letalis in mg/kg	Dauer der Infusion	Überleitungszeit		
					PQ-Ausgangswert in sec/100	Erste erkennbare Verlängerung bei % Dosis letalis	Größte gemessene Länge von PQ in sec/100
I	22	1,9	4,579	65 Min. 14 Sek.	8	8	16
II	23	1,95	4,031	54 „ 3 „	9	12	12
III	25	2,55	3,490	39 „ 21 „	8	10	18
IV	27	3,1	3,910	52 „ 3 „	9	8	16
V	33	2,65	2,087	28 „ 19 „	8	—	16
VI	35	3,1	5,658	78 „ 49 „	9	8	20
VII	37	2,15	2,902	41 „ 6 „	8	11	13
VIII	40	2,55	1,569	17 „ 15 „	8	—	—
IX	41	2,4	1,833	19 „ 21 „	9	26	14
X	42	1,9	1,884	23 „ 35 „	9	—	—

Die zu den Versuchen benutzten Präparate von Gitoxigenin und Desazetyloleandrin waren von Herrn Dozent Dr. W. Neumann im Pharmakologischen Institut Würzburg im Rahmen anderer Untersuchungen hergestellt und freundlichst überlassen worden.

II. Infusion von Gitoxigenin.

a) Dosis letalis.

Das Gitoxigenin mußte wegen seiner schlechten Löslichkeit in physiologischer Kochsalzlösung mit einem Zusatz von 20% Alkohol infundiert werden. Bei Verwendung einer Lösung 1 : 5000 erhielten wir aus 10 Versuchen einen Durchschnittswert für die letale Dosis nach Hatcher-Magnus von 3,194 mg/kg (vgl. Tabelle 1). Dieser Wert weicht von der in der Literatur angegebenen Dosis von 0,76 mg/kg (Fromherz und Welsch[3]) erheblich ab. Auf unsere Versuche zur Ermittlung der Dosis letalis für Gitoxigenin und die damit zusammenhängenden Fragen gehen wir an anderer Stelle[4] näher ein. Hier sei nur angeführt, daß die letale Gesamtdosis von der Infusionsgeschwindigkeit (in mg/kg/Std.) abhing. Je geringer die Infusionsgeschwindigkeit war, desto höher lag im allgemeinen die tödliche Dosis. Eine sichere Beziehung zwischen Infusionsgeschwindigkeit einerseits und Zeit des Auftretens und Stärke der elektrokardiographischen Veränderungen, wie sie im folgenden beschrieben werden, andererseits ließen die Versuche jedoch nicht erkennen. Es ist noch zu erwähnen, daß einige Kontrollversuche mit Infusion von 20%iger Alkohol-Kochsalz-

[3] Fromherz u. Welsch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 266 (1931). —
[4] Neumann, W., u. R. Walther: Erscheint in diesem Archiv.

Katze bei letaler Infusion von Gitoxigenin.

Sinusfrequenz: Ausgangswert in sec/100	Sinusfrequenz: Geringste gemessene Frequenz in sec/100	Sinusfrequenz: Geringste gemessene Frequenz bei % Dosis letalis	Geringste gemessene Frequenz vor der AV-Dissoziation in sec/100	Völlige Kammerautomatie bei % Dosis letalis	Frequenz des Kammereigenrhythmus: Geringste gemessene Frequenz in sec/100	Frequenz des Kammereigenrhythmus: Geringste gemessene Frequenz bei % Dosis letalis	Frequenz des Kammereigenrhythmus: Größte gemessene Frequenz in sec/100	Frequenz des Kammereigenrhythmus: Größte gemessene Frequenz bei % Dosis letalis erreicht
25	44	24	36	24	34	24	26	60
30	70	30	37	23	56	30	28	66
25	36	32	35	18	50	18	20	84
30	43	23	50	23	60	32	28	93
36	102	30	—	11	62	11	32	84
29	50	32	36	20	50	27	26	95
26	58	22	37	22	45	22	26	95
26	64	24	42	24	66	37	22	94
29	72	40	52	40	58	40	24	81
25	92	51	35	10	30	10	20	81

lösung ohne Gitoxigenin durchgeführt wurden. Bei Infusion der in Betracht kommenden Mengen traten keine Veränderungen des Elektrokardiogramms und keine erkennbaren Vergiftungserscheinungen der Tiere ein. Es ist demnach wahrscheinlich, daß in der Verwendung dieses Lösungsmittels für unsere Versuche keine wesentliche Fehlerquelle liegt.

b) Veränderungen des Elektrokardiogramms während der Infusion nach Hatcher-Magnus.

Bei der intravenösen Infusion von Gitoxigenin sind die Veränderungen des Elektrokardiogramms von gleicher Art, wie sie in der I. Mitteilung für Digitoxigenin näher beschrieben sind. Die wichtigsten Beobachtungen aus 10 Versuchen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Sie sind jeweils in Beziehung zur Dosis letalis des betreffenden Versuches gesetzt. In Abb. 2—7 sind einige charakteristische Ausschnitte unserer Elektrokardiogramme wiedergegeben.

Sinusfrequenz: Wie bei Digitoxigenin begann auch bei Gitoxigenin die Verlangsamung des Sinusrhythmus frühzeitig. Bereits nach Infusion von durchschnittlich 10

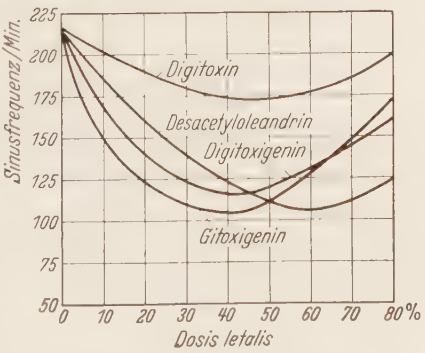


Abb. 1. Verhalten der Sinusfrequenz während der letalen Infusion. (Siehe Text S. 209.)

bis 15% der Dosis letalis war in unseren Versuchen die Bradykardie sehr deutlich (Abb 1). Die Sinusbradykardie nahm im weiteren Verlauf der Infusion an Stärke zu, erreichte bei einem Durchschnittswert von 31% der Dosis letalis ihren Höhepunkt und wurde allmählich bei der weiteren Infusion wieder geringer. Der Sinusrhythmus, gemessen als Abstand der P-Zacken, wurde in der zweiten Hälfte der Infusion häufig unregelmäßig. Mitunter erschienen die P-Zacken nur in sehr großen, unregelmäßigen Abständen. In einem Versuch waren vorübergehend PP-Intervalle von 2—3 Sekunden zu beobachten. Gegen Ende der Infusion waren Vorhofzacken meist nicht mehr erkennbar.

Veränderungen im Elektrokardiogramm der Katze während der Infusion von Gitoxigenin (Abb. 2—7).

Zeitschreibung $^1/_{50}''$.

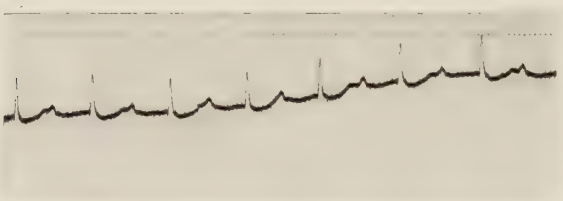


Abb. 2. Erheblich verlängerte Überleitungszeit. Die P-Zacke fällt mit der bereits stark veränderten Nachschwankung des vorhergehenden Kammerkomplexes teilweise zusammen. Tier Nr. 35 der Tabelle 1. 18 % der Dosis letalis. Abl. II.

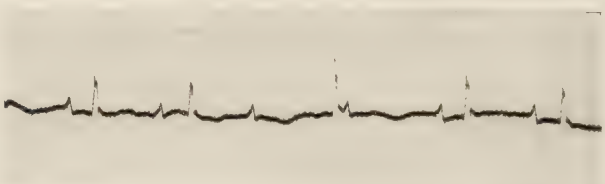


Abb. 3. Verlängerung der Überleitungszeit mit Ausfall einzelner Überleitungen. Tier Nr. 27 der Tabelle 1. 25 % der Dosis letalis. Abl. II.

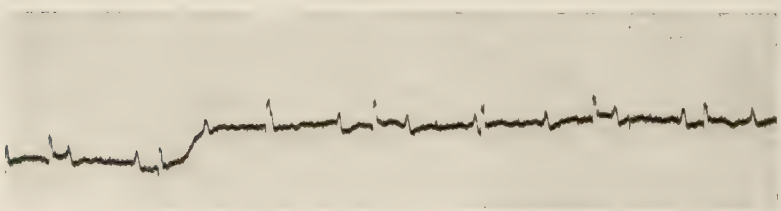


Abb. 4. Völlige atrio-ventrikuläre Dissoziation. Tier Nr. 25 der Tabelle 1. 18 % der Dosis letalis. Abl. II.

Überleitungszeit: Nach Infusion von durchschnittlich 12% der Dosis letalis war die Verlängerung der Überleitungszeit bereits erkennbar. Sie nahm bis zur AV-Dissoziation ständig zu (Abb. 2 und 3). In einem Ver-

such (Tier Nr. 35) betrug das PQ-Intervall 0,20 Sek. bei regelmäßiger Reizfortleitung vom Vorhof zur Kammer. Der Grad der Überleitungsstörung war individuell recht verschieden. Sie war auch in einigen Versuchen, in denen die Bradykardie nur gering war, deutlich.

Abb. 5. Erstes Erscheinen von Extrasystolen.
Tier Nr. 23 der Tabelle 1. 12 % der Dosis letalis. Abl. III.

Abb. 6. Beginn der atrio-ventrikulären Dissoziation. Die P-Zacke rückt immer näher an die R-Zacke heran, fällt mit ihr zusammen, liegt schließlich hinter ihr. Tier Nr. 42 der Tabelle 1. 10 % der Dosis letalis. Abl. III.

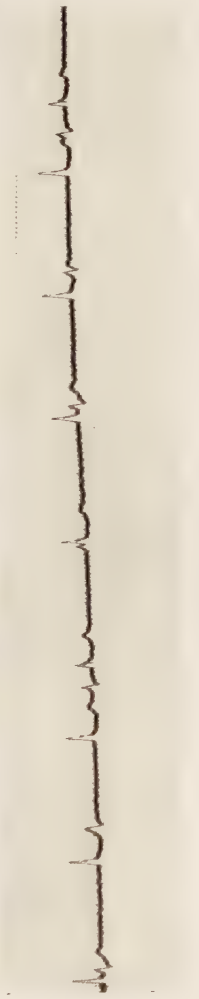


Abb. 7. Interferenzdissoziation bei starker Sinusbradykardie.
Tier Nr. 40 der Tabelle 1. 25 % der Dosis letalis. Abl. II.

Vorhofzacke: Nach Infusion von etwa 15 % der Dosis letalis wurde in unseren Versuchen die P-Zacke kleiner. Durchschnittlich bei 25 % der Dosis letalis war die Höhe der P-Zacke gegenüber ihrer Größe vor Beginn der Infusion um etwa ein Drittel zurückgegangen. Mehrfach war gleichzeitig eine geringe Senkung der PQ-Strecke zu erkennen.

Tabelle 2. Veränderungen im Elektrokardiogra

Lfd. Nr.	Tier Nr.	Tiergewicht in kg	Dosis letalis in mg/kg	Dauer der Infusion	Überleitungszeit		
					PQ-Ausgangswert in sec/100	Erste erkennbare Verlängerung bei % Dosis letalis	Größte gemessene Länge
I	50	2,1	0,272	19 Min. 34 Sek.	8	—	8
II	51	2,8	0,329	18 „ 59 „	8	—	10
III	52	2,3	0,290	21 „ 50 „	8	32	12
IV	53	3,95	0,405	33 „ 20 „	10	—	10
V	54	2,85	0,315	29 „ 21 „	11	11	15
VI	55	2,8	0,329	32 „ 23 „	8	30	12
VII	56	2,24	0,291	24 „ 50 „	8	28	10
VIII	57	2,5	0,232	21 „ 22 „	7	35	10
IX	58	2,05	0,24	18 „ 26 „	8	21	11
X	59	2,5	0,144	19 „ 13 „	7	—	—
XI	60	3,15	0,286	49 „ 23 „	8	27	10

Atrio-ventrikuläre Dissoziation: Bei einem aus 12 Versuchen ermittelten Durchschnittswert von 21,5% der Dosis letalis nach Hatcher-Magnus war die Kammerautomatie bereits an Stelle des Normalrhythmus getreten (Abb. 4). Nur in einem Fall (Nr. IX der Tabelle 1) wurde erst bei 40% der Dosis letalis die AV-Dissoziation festgestellt. Da aber bei diesem Versuch mehrere vorhergehende Elektrokardiogramme ausfielen, ist es möglich, daß die Kammerautomatie auch hier schon früher eingetreten war. Die Führung der Kammer durch den Sinusrhythmus wurde in genau der gleichen Weise, wie es für Digitoxigenin beschrieben wurde (vgl. I. Mitteilung[1]), durch die Kammerautomatie abgelöst (Abb. 5—7).

QRS-Gruppe: In unseren Versuchen waren an der QRS-Gruppe der übergeleiteten Schläge keine Veränderungen erkennbar. Nach Eintritt der AV-Dissoziation war der QRS-Komplex in den meisten Fällen zunächst nur wenig oder überhaupt nicht verändert. Erst im weiteren Verlauf der Infusion übernahmen tiefere Zentren die Reizbildung. In diesem Stadium war der Kammerkomplex verbreitert, diphasisch. Gegen Ende der Infusion waren in der Regel verschiedene Reizbildungszentren nebeneinander in Tätigkeit.

Nachschwankung und Zwischenstück: Die Veränderungen bestehen in Abflachung bzw. Negativität der T-Zacke und Senkung des Zwischenstückes unter die isoelektrische Linie. Sie waren in unserer Versuchsreihe verschieden stark ausgeprägt. Die Veränderungen begannen, sobald 10—30% der Dosis letalis infundiert waren.

Kammerfrequenz: Die Verlangsamung der Schlagfolge bei noch regelmäßiger Reizüberleitung unmittelbar vor der AV-Dissoziation konnte,

er Katze bei letaler Infusion von Desazetyloleandrin.

Sinusfrequenz			Geringste gemessene Frequenz vor der AV-Dissoziation in sec/100	Völlige Kammerautomatie bei % Dosis letalis	Frequenz des Kammereigenrhythmus			
	Geringste gemessene Frequenz				Geringste gemessene Frequenz		Größte gemessene Frequenz	
Ausgangswert in sec/100	in sec/100	bei % Dosis letalis			in sec/100	bei % Dosis letalis	in sec/100	bei % Dosis letalis erreicht
27	50	70	—	50	30	50	30	50
36	76	41	—	38	26	38	24	60
30	50	47	—	38	32	38	25	58
44	—	—	54	63	30	63	28	70
46	57	42	56	42	56	42	26	72
29	66	68	44	57	44	57	26	78
40	66	50	63	53	60	53	31	79
31	74	45	47	45	86	55	26	80
40	—	—	40	79	40	79	26	83
28	42	77	36	60	42	60	24	88
29	—	—	30	40	30	40	26	51

wie aus Tabelle 1 hervorgeht, recht erheblich sein. Die Frequenz des Kammereigenrhythmus zeigte während der Infusion denselben Ablauf, wie er für Digitoxigenin in der I. Mitteilung beschrieben ist. In einem Teil der Versuche war die Frequenz des heterotopen Rhythmus zunächst herabgesetzt, mitunter nahm die Verlangsamung sogar vorübergehend noch zu. Der Kammereigenrhythmus wurde in allen Versuchen im Laufe der weiteren Infusion wieder beschleunigt. Seine Frequenz war vor dem Herzstillstand in der Regel etwas schneller als die Herzschlagfolge vor Beginn der Infusion.

III. Infusion von Desazetyloleandrin.

Das Desazetyloleandrin wurde in einer Konzentration von 1 : 25000 in physiologischer Kochsalzlösung mit einem Alkoholzusatz von 5% infundiert.

Der Durchschnittswert der Dosis letalis aus 11 Versuchen betrug 0,285 mg/kg (Tabelle 2), was mit den Angaben von W. Neumann und W. Lindner[2] und von Chen und Mitarbeitern[5] übereinstimmt, die 0,31 mg kg bzw. 0,308 mg kg fanden. Weitere Literaturangaben über Tierversuche mit Desazetyloleandrin liegen nicht vor. Elektrokardiographische Untersuchungen sind nicht bekannt.

Die wichtigsten Einzelergebnisse aus unseren Versuchen sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Abb. 8–10 bringen einige charakteristische Ausschnitte unserer Elektrokardiogramme.

[5] Chen, Anderson u. Robbins: J. amer. pharmaceut. Assoc. **27**, 113 (1938).

Sinusfrequenz: Auch bei Desazetyloleandrin wurde bald nach Beginn der Infusion die Sinusfrequenz langsamer. Wie aus Tabelle 2 und Abb. 1 hervorgeht, war die Sinusbradykardie hochgradig. Sie erreichte nach Infusion von durchschnittlich 55 % der Dosis letalis ihren Höhepunkt. Ihre Höchstwerte stimmen mit den bei der Infusion von Gitoxigenin gemessenen annähernd überein. Im weiteren Verlauf der Infusion nahm die Sinusfrequenz, gemessen am Abstand der P-Zacken, allmählich wieder zu.

Veränderungen im Elektrokardiogramm der Katze bei der Infusion von Desazetyloleandrin (Abb. 8—10).

Abb. 8. Erstes Auftreten von Extrasystolen zwischen dem Normalrhythmus. Tier Nr. 50 der Tabelle 2. 35 % der Dosis letalis. Abl. III.

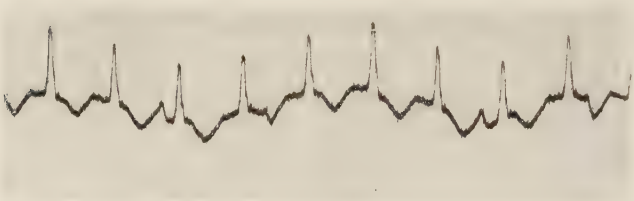


Abb. 9. Totale atrio-ventrikuläre Dissoziation. Tier Nr. 52 der Tabelle 2. 38 % der Dosis letalis. Abl. III.

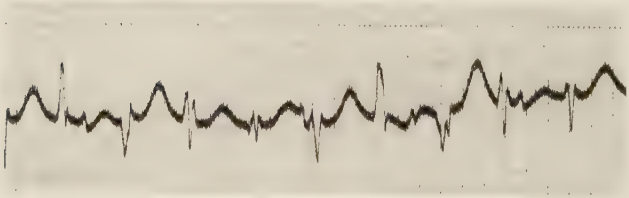


Abb. 10. Kammerautomatie. Ventrikuläre Extrasystolen verschiedenen Ursprungs haben den Normalrhythmus abgelöst. Der Ausschnitt entstammt dem gleichen Versuch wie Abb. 8. 70 % der Dosis letalis. Abl. II.

Überleitungszeit: Bei einem Durchschnittswert von 26 % der Dosis letalis war der Beginn der Verlängerung der Überleitungszeit festzustellen. Die Verlängerung des PQ-Intervalles nahm bis zur AV-Dissoziation weiter zu. Als Höchstwerte des PQ-Intervalles wurden 0,12—0,15 Sekunden gemessen.

P-Zacke: Regelmäßig wurde während der Infusion die P-Zacke kleiner. Doch war diese Verkleinerung nicht so deutlich wie bei Gitoxigenin.

AV-Dissoziation: In unseren Versuchen kam die Kammerautomatie bei einem Durchschnittswert von 51% der Dosis letalis zum Durchbruch. Nach Infusion von 30—40% der Dosis letalis erschienen in den meisten Versuchen zunächst vereinzelte Extrasystolen zwischen den Normalschlägen (Abb. 8). Sie lösten, meist in Form der Ventrikelextrasystolen, bald nach ihrem ersten Auftreten den Normalrhythmus vollständig ab (Abb. 9 und 10).

QRS-Gruppe: Bis zur AV-Dissoziation war die QRS-Gruppe wenig verändert, nur geringfügig verbreitert. Im Stadium der Kammerautomatie hatte der Kammerkomplex die Form ventrikulärer Extrasystolen, deren verschiedene Gestalt auf die gleichzeitige Tätigkeit mehrerer Reizbildungszentren schließen ließ.

Kammereigenfrequenz: Die Frequenz des Kammereigenrhythmus war, wie im einzelnen aus Tabelle 2 hervorgeht, in den meisten Versuchen gegenüber der Frequenz des Herzens vor Beginn der Infusion zunächst verlangsamt. Bei der weiteren Infusion nahm in der gleichen Weise, wie es für Gitoxigenin beschrieben wurde, die Frequenz zu. Gegen Ende der Infusion stimmte die Kammerfrequenz ungefähr mit der Ausgangsfrequenz des Herzens im Durchschnittswert überein.

Nachschwankung: Die Abflachung der T-Zacke war in zwei Versuchen bereits bei 10% der Dosis letalis zu erkennen. In den übrigen Fällen waren die ersten Veränderungen der T-Zacke und des Zwischenstückes bei 30—40% der Dosis letalis bemerkbar. Nach Infusion von 50 bis 60% der Dosis letalis war die T-Zacke stets negativ.

B. Besprechung der Ergebnisse.

Aus unseren Versuchen geht hervor, daß Gitoxigenin und Desazetyloleandrin im Elektrokardiogramm der Katze typische Digitaliswirkung haben. Jedoch bestehen in mehrfacher Hinsicht Unterschiede zwischen beiden Stoffen. Die Verlängerung der Überleitungszeit war bei Gitoxigenin stärker als bei Desazetyloleandrin. Die Sinusbradykardie begann bei Gitoxigenin frühzeitiger, erreichte ihren Höchstwert bereits bei durchschnittlich 30% der Dosis letalis. Bei Desazetyloleandrin dagegen erfolgte die Verlangsamung der Sinusfrequenz allmählicher, ihr Höhepunkt lag erst bei durchschnittlich 55% der Dosis letalis.

In Abb. 1 ist das Verhalten der Sinusfrequenz im gesamten Verlauf der Infusion für die in dieser und der I. Mitteilung untersuchten Stoffe dargestellt. Den Kurven der Abbildung sind die aus allen Einzelmessungen berechneten Durchschnittswerte zugrunde gelegt. Die Sinusfrequenz wurde gemessen als Abstand der Vorhofzacken. Zu bemerken ist, daß in den späteren Stadien der Infusion die P-Zacken mitunter nicht mehr sicher abgrenzbar waren. Dadurch muß ein allmählich zunehmender Teil

der Versuche bei der Berechnung der Durchschnittswerte ausfallen. Bei der immer geringer werdenden Zahl der verwertbaren Messungen können dann einzelne stark herausfallende Werte den Durchschnittswert im späteren Verlauf der Infusion erheblich stärker beeinflussen als im Anfang. Es ist also zu berücksichtigen, daß die durchschnittliche Änderung der Sinusfrequenz durch die Kurven etwa im letzten Drittel ihres Verlaufs weniger zuverlässig wiedergegeben wird als vorher. Abb. 1 zeigt im linken Teil der Kurven deutlich die ganz gleichartige Änderung der Sinusfrequenz bei Digitoxigenin und Gitoxigenin und andererseits das gegensätzliche Verhalten des Digitoxins; das Desazetyloleandrin nähert sich dagegen mit seiner steil abfallenden Kurve mehr den beiden Geninen. Auch der letzte Teil der Kurven zeigt bei den Aglukonen einen fast übereinstimmenden Verlauf. Die Kurve des Desazetyloleandrins ähnelt aber hier mit dem später liegenden Maximum mehr der des Digitoxins. Zu weitgehende Schlüsse dürfen aber, wie schon angedeutet, aus dem Verlauf im letzten Drittel der Kurven nicht gezogen werden.

Die Kammerautomatie war bei Desazetyloleandrin nach Infusion von durchschnittlich 50% der Dosis letalis erreicht, bei Gitoxigenin dagegen bereits bei einem Mittelwert unserer Versuche von 21% der Dosis letalis. Der Übergang vom Sinusrhythmus zum Kammereigenrhythmus zeigte bei Desazetyloleandrin nicht das Bild, wie es früher für Digitoxigenin beschrieben und jetzt bei Gitoxigenin ebenfalls beobachtet wurde. Desazetyloleandrin verhält sich in dieser Hinsicht ähnlich wie Digitoxin. Die Unterschiede der Wirkung zwischen Gitoxigenin und Desazetyloleandrin sind also in mancher Hinsicht ähnlich wie zwischen Digitoxigenin und Digitoxin. Im übrigen waren beim Vergleich der Wirkung von Gitoxigenin und Desazetyloleandrin keine weiteren Besonderheiten festzustellen.

Die unter Einwirkung von Gitoxigenin entstehenden Veränderungen des Elektrokardiogramms gleichen den in der I. Mitteilung für Digitoxigenin beschriebenen. Gitoxigenin und Digitoxigenin zeigen innerhalb der allgemeinen Schwankungsbreite sowohl qualitativ als auch quantitativ (d. h. bei Heranziehung gleicher prozentualer Anteile der tödlichen Dosen) praktisch die gleichen Wirkungen auf das Elektrokardiogramm. Als charakteristisch für die beiden untersuchten Genine gegenüber entsprechenden Glykosiden kann herausgestellt werden: Stärkere Wirkung auf Frequenz und Überleitungszeit, atrio-ventrikuläre Dissoziation zu einem früheren Zeitpunkt. Die Vermutung liegt nahe, daß vielleicht noch andere Genine der Digitalisgruppe ähnliche Unterschiede gegenüber ihren Glykosiden zeigen, ja, daß es sich vielleicht um allgemeine Eigenschaften aller herzwirksamen Genine handeln könnte.

In diesem Zusammenhang sei noch auf Mitteilungen von Gold und Mitarbeitern[6] hingewiesen. Diese Autoren untersuchten Digitoxin

[6] Gold, Hitzig, Gelfand u. Glassmann: Americ. Heart J. **6**, 237 (1930).

und außerdem einige Digitalistinkturen. Sie glauben, keinen über die allgemeine Schwankungsbreite hinausgehenden wesentlichen Unterschied der elektrokardiographischen Veränderungen zwischen den von ihnen untersuchten Stoffen gefunden zu haben. Darunter befanden sich neben Digitoxin zwei Digitalistinkturen und eine Chloroformfraktion aus einer Digitalistinktur. Uns fällt bei der Durchsicht der Arbeit auf, daß der Durchbruch des heterotopen Rhythmus bei den oben erwähnten Tinkturen schon nach einem geringeren Prozentsatz der Dosis letalis erfolgte als bei Digitoxin (vgl. Tabelle 3, die einen Auszug aus Tabelle VII der Arbeit von Gold und Mitarbeitern darstellt). Man sieht aus dieser Tabelle weiterhin, daß auch die Verlängerung des PR-Abstandes bei Digitoxin relativ später eintrat als bei den anderen Stoffen. Es erscheint möglich, daß die Tinkturen und der Chloroformauszug diesen an sich geringen Unterschied gegenüber dem Digitoxin auf Grund eines Gehaltes an Geninen zeigten. Bekanntlich können ja Digitalisgesamtpräparate in wechselnder Menge Genine enthalten (Cloetta[7]), die nach ihren physikalischen Eigenschaften auch in einen Chloroformauszug übergehen müßten.

Tabelle 3. Auszug aus einer Tabelle von Gold und Mitarbeitern (siehe Text).

Art des Stoffes	Beginn der Verlängerung von P—R bei % der Dosis letalis	Durchbruch des heterotopen Rhythmus bei % der Dosis letalis
Tct. Digit. (amerikanisch)	47 (30–71)	48 (30— 75)
Tct. Digit. (deutsch)	50 (34–63)	51 (29— 89)
Chloroformfraktion	43 (30–53)	49 (22— 70)
Digitoxin	56 (46–60)	62 (41–100)

Während sich die beiden von uns untersuchten Genine in ihrer Wirkung auf das Elektrokardiogramm sehr nahe stehen, zeigen sich zwischen den beiden Glykosiden Desazetyloleandrin und Digitoxin (vgl. I. Mitteilung) gewisse Unterschiede: Bei Infusion von Desazetyloleandrin erscheint die Kammerautomatie etwas früher, die Wirkung auf Frequenz und Überleitungszeit ist stärker als bei Digitoxin. Das Oleanderglykosid nimmt also eine Zwischenstellung zwischen den untersuchten Geninen und dem Digitoxin ein.

Für die Deutung dieses Unterschiedes zwischen Desazetyloleandrin und Digitoxin ist zu berücksichtigen, daß Desazetyloleandrin auch in seinem chemischen Aufbau eine Sonderstellung gegenüber den Digitalisglykosiden hat (W. Neumann und W. Lindner[2]). Während bei Digitoxin und ebenso bei Gitoxin das Genin an eine Kette aus drei Digitoxosemolekülen gebunden ist, enthält das Desazetyloleandrin neben dem Gitoxigenin nur 1 Molekül Oleandrose, die unter den Zuckern der Digitalisgruppe eine besondere Stellung einnimmt. Vielleicht ist in den Besonderheiten des Zuckeranteils der Grund dafür zu suchen, daß die im Elektrokardiogramm faßbare Herzwirkung

[7] Cloetta: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **112**, 305 (1926).

des Desazetyloleandrins die erwähnten Unterschiede gegenüber dem Digitoxin aufweist und sich so mehr den Geninen nähert.

Andererseits kann zur Zeit noch nicht entschieden werden, ob nicht auch andere Glykoside des Gitoxigenins, von denen ja heute schon eine ganze Anzahl bekannt sind, in ihrer Wirkung auf das Elektrokardiogramm ähnliche Unterschiede gegenüber dem Digitoxin aufweisen wie das Desazetyloleandrin.

Falls eine solche allgemeine Übereinstimmung der Eigenschaften aller Glykoside des Gitoxigenins bestände, könnten auch die aus der Mitteilung von Gold und Mitarbeitern zu entnehmenden Unterschiede der Wirkung zwischen Reinsubstanzen und Tinkturen vielleicht auf einen Gehalt der letzteren an Gitoxigeninglykosiden bezogen werden. Beim derzeitigen Stand unserer Kenntnisse kann eine Entscheidung zwischen den beiden angeführten Deutungsmöglichkeiten noch nicht getroffen werden.

Unsere Versuche zeigen, daß gewisse Unterschiede des Wirkungsmechanismus bei den von uns untersuchten Stoffen bestehen, die offenbar von der chemischen Struktur abhängig sind. In der I. Mitteilung wurde bereits der Hinweis auf die Vaguswirkung der Stoffe der Digitalisgruppe gegeben. Jedoch ist nach den bisher durchgeführten Untersuchungen eine nähere Deutung der Beobachtungen noch nicht möglich.

Zusammenfassung.

Gitoxigenin und das von ihm abzuleitende Glykosid Desazetyloleandrin wurden mit der früher beschriebenen Methodik bezüglich ihrer Wirkung auf das Elektrokardiogramm der Katze vergleichend untersucht.

Beide Stoffe zeigen im Elektrokardiogramm der Katze typische Digitaliswirkung, lassen jedoch beim Vergleich deutliche Unterschiede erkennen:

Die atrio-ventrikuläre Dissoziation kommt bei Gitoxigenin früher zustande als bei Desazetyloleandrin. Die Überleitungszeit wird durch Gitoxigenin stärker verlängert als durch Desazetyloleandrin. Die Sinusbradykardie erreicht bei Gitoxigenin früher hohe Werte als bei Desazetyloleandrin.

Gitoxigenin schließt sich in seiner Wirkung auf das Elektrokardiogramm der Katze eng dem früher untersuchten Digitoxigenin an.

Desazetyloleandrin steht dagegen in seiner Wirkung auf das Elektrokardiogramm der Katze zwischen Digitoxin und den beiden bisher untersuchten Geninen.

Das vom Digitoxin abweichende Verhalten des Desazetyloleandrins wird in Zusammenhang mit seiner chemischen Sonderstellung gebracht. Es bedarf jedoch noch weiterer Untersuchungen zur Klärung der Frage nach dem Anteil des Genins und des besonderen Zuckers des Oleanderglykosids an seiner von Digitoxin abweichenden Wirkung.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Über Beziehungen zwischen Aneurin und dem Azetylcholinstoffwechsel.

Von

Dr. **Franz v. Brücke** und Dr. **Hans Sarkander.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juli 1940.)

In den letzten Jahren mehren sich Angaben, die auf eine nahe Beziehung des Vitamins B_1 zu der Bildung bzw. Wirkung des Erregungsstoffes Azetylcholin hinweisen. Wenn hierbei von Aneurin gesprochen wird, dann handelt es sich wahrscheinlich nicht um das Vitamin selbst, sondern um seine Diphosphorsäureverbindung, die nach K. Lohmann[1] identisch mit der (1932) von E. Auhagen[2] in Hefekochsaft und später auch in tierischem Gewebe nachgewiesenen Cocarboxylase ist.

Über die Bildung des Azetylcholins unter Bedingungen, wie sie im lebenden Gewebe möglich sind, herrscht noch wenig Klarheit. Zwar weiß man seit den Arbeiten von Abderhalden und Paffrath[3], sowie von R. Ammon[4], daß die in fast allen Geweben, sowie im Serum sehr vieler Tiere nachgewiesene Cholinesterase bei geeigneten Reaktionsbedingungen imstande ist, Cholin und Essigsäure zu synthetisieren, und Cholin ist ja ebenfalls in fast allen Geweben des Körpers nachgewiesen worden.

Anders steht es aber mit dem Ursprung des Essigsäureanteiles. Ein gewisses Licht können hierauf Versuche von J. H. Quastel[5] und Mitarbeitern werfen, die bei Bebrütung von Gehirnschnitten mit Glucose oder Abbauprodukten des K.H.-Stoffwechsels, wie z. B. mit Salzen der Brenztraubensäure eine Steigerung der Azetylcholinsynthese beobachten konnten, die auch ohne solche Zusätze beim Stehenlassen des Gehirnes abläuft. Stedman[6] hat allerdings diese Befunde nicht bestätigen können.

Pyruvatzusatz hatte in Stedmans[7] Versuchen sogar eine hemmende Wirkung. Doch ist hierzu zu sagen, daß die Stedmanschen Versuche sich unter recht unphysiologischen Bedingungen (Zusatz von Chloroform usw.) abspielten. Viel beweisender für die Richtigkeit der Annahme

---

[1] Lohmann, K., u. Ph. Schuster: Naturwiss. **1937**, S. 26. — [2] Auhagen, E.: Z. physiol. Chem. **204**, 149 (1932); **209**, 20 (1932) sowie Biochem. Z. **258**, 53 (1933). — [3] Abderhalden, E., u. H. Paffrath: Fermentforschung **8**, 229 (1926). — [4] Ammon, R., u. H. Kwiatkowski: Pflügers Arch. **234**, 269 (1934). — [5] Tennenbaum, M., J. H. Quastel u. A. H. M. Wheatley: Biochem. J. **30**, 1668 (1936); a. a. O. — [6] Stedman, E., u. E. Stedman: J. Physiol. (Brit.) **89**, (1937) u. Biochem. J. **31**, 817 (1937). — [7] l. c. S. 1, Nr. 7.

von Quastel[8] und Mitarbeiter sind neue Versuche von Kahlson und Mac Intosh[9] am Ganglion cervicale superius der Katze. Die Verfasser durchströmten das Ganglion nach der Kibjakowschen[10] Methode mit Kochsalzlösung und maßen nun bei Reizung des präganglionären Halssympathicus einerseits die Azetylcholinbildung im Ganglion, andererseits die Ausschläge der zugehörigen Nickhaut. Es zeigte sich hierbei, daß die gleichen Zuckerabbauprodukte, die Quastel[8] und Mitarbeiter verwendet hatten, sowohl die Azetylcholinsynthese deutlich fördern, als auch die mechanische Wirkung der Sympathicusreizung an der Nickhaut erhöhen. Tatsächlich trat in den Versuchen von Kahlson und Mac Intosh[9] die fördernde Wirkung bei Anwendung von Pyruvat nach der kürzesten Latenzzeit ein. Vitamin B_1-Zusatz hatte keine Wirkung. Cocarboxylase wurde jedoch nicht versucht.

Kahlson und Mac Intosh werfen nur die Frage auf, ob die Zuckerabbauprodukte nur als Energielieferanten in die Azetylcholinsynthese eingreifen, ohne die Möglichkeit in Betracht zu ziehen, daß solche Stoffe den Essigsäureanteil des Azetylcholins liefern können. Ein Weg hierzu ist durch die Arbeiten von H. A. Krebs[11] und seinen Mitarbeitern aufgefunden worden, als sie zeigen konnten, daß verschiedene tierische Gewebe selbst bei Ausschluß von Sauerstoff aus Brenztraubensäure Essigsäure bilden können, und zwar nach der Formel: 2 Brenztr. + H_2O = Essigsäure + CO_2 + Milchsäure. Es handelt sich demnach um eine intermolekulare Oxydoreduktion, wobei 50% der Brenztraubensäure zu Milchsäure reduziert und 50% zu Essigsäure oxydiert werden. Normalerweise kann die anfallende Essigsäure weiter verarbeitet werden, indem sie mit einem weiteren Molekül Brenztraubensäure unter Bildung von β-Oxybuttersäure zusammentritt. Es scheint uns aber berechtigt, anzunehmen, daß die Essigsäure auch mit Cholinmolekülen der Nervensubstanz reagieren kann, wobei der hochwirksame chemische Überträgerstoff gebildet würde. Die Azetylcholinbildung würde sich demnach bei Anwesenheit reaktionsbereiter Cholinanteile und unter Bedingungen, die eine Essigsäurebildung aus Brenztraubensäure begünstigen, von dem natürlichen Ablauf des Kohlehydratstoffwechsels ableiten lassen.

Von einer anderen Seite her wird eine nahe Beziehung zwischen dem Aneurin und der Azetylcholinbildung wahrscheinlich. Schon 1934 haben L. Binet und B. Minz[12] darauf aufmerksam gemacht, daß im Vagusstamm des Hundes eine Substanz vorhanden ist und auch bei Reizung in die umgebende Flüssigkeit abgegeben wird, die eine verstärkende Wirkung auf die Azetylcholinkontraktur des Blutegels hat. Später[13] wurde

[8] l. c. S. 1, Nr. 5. — [9] Kahlson, G., u. F. C. J. Mac Intosh: J. Physiol. (Brit.) **96**, 277 (1939). — [10] Kibjakow, A. W.: Pflügers Arch. **232**, 432 (1933). — [11] Krebs, H. A.: Nature **1936**, II, S. 288; Krebs, H. A., u. W. A. Johnson: Biochem. J. **31**, 45; a. a. O. — [12] Binet, L., u. B. Minz: C. r. Soc. Biol. (Paris) **118**, 1130 (1935) u. **117**, 4029 (1935). — [13] Minz, B.: Ebenda **127**, 1251 (1938).

es wahrscheinlich gemacht, daß diese Substanz mit dem Aneurin identisch ist. Diese zunächst wenig beachteten Befunde sind neuerdings von A. v. Muralt[14] für den gemischten motorischen Nerven durchaus bestätigt worden, der auch das Freiwerden von Aneurin bei der Nervenreizung verfolgt hat.

Der hier aufgezeigte Weg der Bildung des Essigsäureanteiles für die Azetylcholinsynthese würde viel von seinem hypothetischen Charakter verlieren, wenn sich zeigen ließe, daß Aneurin (bzw. Cocarboxylase) in diese Reaktion eingreift. Dieses Co-Ferment ist nämlich nicht nur für die Decarboxylierung der Brenztraubensäure durch Hefe unerläßlich, sondern es kann nach den Untersuchungen von Krebs[15] anscheinend auch die Essigsäurebildung aus Brenztraubensäure katalysieren; eine Fähigkeit, die dem reinen Vitamin B_1 fehlt.

Tatsächlich fanden zunächst Minz und Agid[16], daß Vitamin B_1 die Azetylcholinkontraktur des mit Eserin sensibilisierten Blutegels verstärken kann, und wir[17] haben kürzlich gezeigt, daß diese Reaktion spezifisch und nicht durch eine Verschiebung der p_H-Werte nach der sauren Seite bedingt ist. Eine Vorbedingung für diese Verstärkung der Azetylcholinkontraktur ist ja die Verschiebung des Gleichgewichtes Ester $\rightleftharpoons$ Spaltprodukte, nach der Richtung des ungespaltenen Esters, wie sie zunächst durch Eserin erzielt wird, bzw. durch eine Verschiebung des p_H nach der sauren Seite, wie sie aber auch vorübergehend das Vitamin B_1 herbeiführen muß, falls es tatsächlich durch Katalyse die Essigsäureproduktion vermehrt*. Falls aus Mangel an Azetylcholin keine Hemmung seiner Spaltung durch entstehende Essigsäure stattfinden kann, müßte B_1 wirkungslos bleiben, was in der Tat der Fall ist, solange es allein auf den Blutegel einwirkt. Es müßte sogar hemmend auf die Blutegelkontraktur wirken, wenn die durch das Vitamin bereitgestellte Essigsäure weiter abgebaut und dadurch die verfügbare Substratmenge verringert wird. Dies ist, wie wir kürzlich zeigen konnten und wie auch Minz gelegentlich beobachtete, der Fall: Nur bei gleichzeitiger Anwesenheit mit Azetylcholin verstärkt Vitamin B_1 die Blutegelkontraktion. Dies erklärt auch, warum die Verstärkung gelegentlich vermißt wurde[18]. Auch am isolierten Darm haben Agid, Beauvallet und Minz[19] eine deutliche Verstärkung der Azetylcholinwirkung durch

---

* Es muß hierzu bemerkt werden, daß wir in neueren Versuchen mit gepufferten Systemen am Blutegel gefunden haben, daß Cocarboxylase, für deren freundliche Überlassung wir der Firma E. Merck bestens danken, nicht die gleiche verstärkende Wirkung auf die Kontraktur des Blutegelmuskels hat, wie das nicht phosphorylierte Vitamin B_1. Während dieses schon in Verdünnungen von 1 : 100000 die Verstärkung deutlich zeigt, kann man mit der doppelten Konzentration von Cocarboxylase kaum eine Wirkung erzielen.

[14] Muralt, A. v.: Naturwissensch. **1939**, S. 265. — [15] l. c. S. 2, Nr. 5. — [16] Minz, B., u. R. Agid: C. r. Acad. Sci. (Paris) **205**, 576 (1937). — [17] Brücke, F. Th. v., u. H. Sarkander: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 218 (1940). — [18] Riechert, W., u. H. Hübschmann: Ebenda **194**, 539 (1940). — [19] Agid, R., M. Beauvallet u. B. Minz: C. r. Soc. Biol. (Paris) **126**, 982 (1937).

Vitamin B_1 gefunden, und E. und R. Abderhalden[20] finden den Darm B_1-frei ernährter Tauben unempfindlich gegen Azetylcholin; sie konnten die normale Empfindlichkeit durch Zusatz von B_1 wiederherstellen. Daß die genannte Verstärkung nichts mit einer Hemmung der Cholinesterase zu tun hat, haben ebenfalls Agid und Minz [21] zeigen können und wir konnten diesen Befund bestätigen: In vitro hat B_1 weder eine fördernde, noch eine hemmende Wirkung auf die Azetylcholinspaltung.

Umgekehrt können bei Vitamin B_1-Mangel Wirkungen, die unter Beteiligung des im Körper entstehenden Azetylcholins vor sich gehen, nur abgeschwächt eintreten. Ein Beispiel hierfür kann man im Fehlen der Digitaliswirkung am Beriberi-Herzen sehen. Wir wissen seit den Untersuchungen von Gremels[22], daß die Stoffwechselwirkung der Digitalis auf dem Wege einer Förderung der Kohlehydratassimilation durch Azetylcholin zustande kommt, welches auch an den übrigen vagalen Wirkungen der Digitalis beteiligt ist.

Es schien uns bei diesem Stand der Dinge wünschenswert, den Azetylcholinstoffwechsel des Vitamin B_1-frei ernährten Tieres zu untersuchen.

Methodik.

Wir verwendeten zu unseren Versuchen Tauben vom Durchschnittsgewicht von 300 g (261—345), die vom Tierhändler frisch gefangen worden waren. Im Institut erhielten die Tiere als Normalkost ein gemischtes Körnerfutter (Hafer, Gerste, Weizen) und Wasser. Sie wurden im Zimmer gehalten. Zur Erzielung der Avitaminose wurde ausschließlich polierter Reis gefüttert, der zur Vermeidung von Verlusten in Mengen von 10—20 g direkt in den Kropf eingeführt wurde. Es fiel auf, daß die Avitaminoseerscheinungen stets unmittelbar nach der Reisfütterung am ausgeprägtesten waren (Ataxie) und auch die opisthotonischen Krämpfe traten immer unmittelbar nach der Fütterung auf.

Zur Azetylcholinbestimmung wurde bei normalen und avitaminotischen Tauben nach dem Tode durch Entbluten das Zentralnervensystem im ganzen entnommen, dann aber Großhirn, Kleinhirn mit den lobi optici und Rückenmark getrennt extrahiert. Ebenso wurden möglichst große Stücke von peripheren Nerven aus dem plexus brachialis (ungefähr 0,2 g) untersucht. Die Bestimmung erfolgte nach Wägung der einzelnen Teile, mit der alten Engelhartschen[23] Methode durch Extraktion mit n/100 HCl-96%igem Alkohol, Eindampfen im Trockenschrank bei 90° und Auswertung am eserinisierten Blutegel. Wir führten diese Auswertungen in einem mit m/30 Phosphatpuffer nach Sörensen bei p_H 6,9 gehaltenen Froschringer durch, der eine optimale Empfindlichkeit des Wurmpräparates gewährleistet. Jede Blutegelkontraktur nach Zufügung eines Extraktes von unbekanntem Azetylcholingehalt wurde zwischen zwei Kontrakturen nach möglichst eng beieinander liegenden bekannten Azetylcholinkonzentrationen eingefaßt. Die Extraktionsmethode mit saurem Alkohol ist zwar wiederholt angegriffen worden, so von Chang und Gaddum[24], sowie Barsoum[25], die bei

---

[20] Abderhalden, E., u. R. Abderhalden, Pflügers Arch. **240**, 388 (1938). — [21] l. c. S. 3, Nr. 2. — [22] Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 629 (1940). - [23] Engelhart, E.: Pflügers Arch. **225**, 721 (1930). — [24] Chang, H. C., u. J. H. Gaddum: J. of Physiol. **79**, 255 (1933). — [25] Barsoum, G. S.: J. f. Physiol. **84**, 259 (1935).

Extraktion mit Trichloressigsäure erheblich höhere Werte fanden, doch hat sie sich in der Hand deutscher Autoren[26] als einfachste Methode bewährt.

Die Bestimmung der Cholinesterase im Serum und in Gewebsextrakten (3 ccm Ringer auf 1 g Gewebe und zentrifugieren), haben wir nach der gasanalytischen Methode von R. Ammon[27] in Warburg-Manometern mit Nikolai-Trögen durchgeführt. Die Ansätze enthielten als Substrat 0,75 ccm einer 1%igen Lösung von Azetylcholinchlorid Roche* und 0,75 ccm einer 0,4%igen $NaHCO_3$-Lösung, die beide mit Froschringer hergestellt waren. Die Pufferung erfolgte durch Sättigung der Lösung und Füllung der Manometer mit einem Gemisch von 95% N und 5% CO_2. Als Fermentlösung kam in den seitlichen Ansatz entweder vierfach verdünntes Serum (0.5 ccm) oder ebensoviel Gewebsextrakt. Die Werte wurden für die Tabellen auf unverdünntes Serum umgerechnet. Der Temperaturausgleich erfolgte bei 38° und die nach dem Zusammengießen von Ferment und Substrat aus dem Bicarbonat freigemachte CO_2 wurde während einer Stunde alle 10 Minuten abgelesen. Da bei Überschuß von Substrat die Spaltung, wie schon R. Ammon gefunden hat, ziemlich geradlinig verläuft, haben wir stets den mittleren 10-Minuten-Wert aus den 6 Ablesungen einer Stunde berechnet und die im folgenden angegebenen Esterasewerte geben diesen Wert bei 0° und 760 mm Hg-Druck an. 100 cmm entstehende Kohlensäure entsprechen dann einer hydrolytischen Spaltung von 815 γ Azetylcholinchlorid.

Ergebnisse.

Die in verschiedenen Teilen des Nervensystems bei normalen und avitaminotischen Tauben gefundenen Azetylcholinmengen in γ pro g frischen Gewebes können aus Tabelle 1 entnommen werden.

Tabelle 1.

Azetylcholingehalt in γ pro g im	Bei 3 normalen Tauben			Bei avitaminotischen Tauben		
Großhirn	0,74—0,83	0,46—0,58	0,58	2,37	0,51	1,87
Kleinhirn und lobi optici	0,89	0,87	0,72	1,2	0,99	0,61
Rückenmark	0,96	1,4	0,92	2,7	1,15	0,9
Nervenplexus	1,3—1,5	0,95	6,1	1,84—2,48	5,2	1,4

Die Werte stimmen in der Größenordnung mit jenen überein, die G. S. Barsoum[28] am Nervensystem von Mensch und Hund, B. B. Dikshit[29] am Gehirn von Katzen und Kaninchen fand. F. Plattner[30] hat

* Für Überlassung der zu den Versuchen nötigen Menge von Azetylcholinchlorid (Roche) möchten wir der Wiener Vertretung dieser Firma an dieser Stelle bestens danken.

[26] Plattner, F.: Pflügers Arch. **234**, 258 (1933). — [27] Ammon, R.: Ebenda **233**, 486 (1933). — [28] Barsoum, G. S.: l. c. S. 4, Nr. 3. — [29] Dikshit, B. B.: J. Physiol. (Brit.) **80**, 409 (1934). — [30] Plattner, F.: l. c. S. 5, Nr. 1.

am Katzenhirn etwas höhere Werte gefunden. Auffällig ist der relativ hohe Azetylcholingehalt des Rückenmarkes, der beim Säugetier stets niedriger ist als im Gehirn. Beim Frosch ist der im ZNS. gefundene Azetylcholinwert (wobei das Rückenmark über die Hälfte des ganzen Gewichtes ausmacht) nach Versuchen von O. Loewi und Hellauer[31] bedeutend höher. Es scheint, daß der Gehalt des Rückenmarkes an Azetylcholin mit der Vorwärtsentwicklung der Wirbeltiere abnimmt. Am höchsten sind wie beim Säugetier die Werte in den peripheren Nerven, doch schwankten hier unsere Befunde stark, was mit der geringen Menge des zur Verfügung stehenden Gewebes und mit der Schwierigkeit zusammenhängen mag, das bindegewebsreiche Plexusgewebe zu extrahieren. Im Nervensystem der Beriberi-Tauben schwankt der Azetylcholingehalt beträchtlich, doch läßt sich ein sicherer Unterschied gegenüber normalen Werten nicht nachweisen. Sicher ist der Gehalt nicht verringert.

Auch im Esterasegehalt des Gehirns (Gesamtextrakt), des Herzmuskels, der Leber und des peripheren Nerven konnten wir keinen Unterschied zwischen avitaminotischen und normalen Tauben feststellen. Sehr konstant war dagegen eine Erhöhung der Serumesterase bei der B_1-Avitaminose. Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, betrug die von 0,5 ccm Serum frisch eingefangener, in Freiheit lebender Tauben in 10 Minuten in Freiheit gesetzte

Tabelle 2. Serumesterasewerte in cmm CO_2 bei 0 und 760 mm Hg pro 10 Minuten (nach der Methode von R. Ammon[32] aus 0,5%iger Azetylcholinlösung bei Anwesenheit von 0,2%igem $NaHCO_3$ in Freiheit gesetzt).

a) Taubenserum von frisch eingefangenen Tieren		b) Taubenserum in Gefangenschaft bei gemischtem Körnerfutter		c) Serum von ausschließlich mit poliertem Reis gefütterten Tauben	
Doppelbestimmungen		Doppelbestimmungen		Doppelbestimmungen	
50,7	43,8	124,0	107,3	490,5	454,8
47,7	38,7	90,2	104,1	411,6	421,9
45,1	49,3	95 9	95,9	631,4	
53,7	44,3	214,2	208,2	375,7	376,8
98,6		190,8	188,4	462,3	454,8
43,8	50,4	189,2	177,3	399,5	404,5
		203,0	213,7	520,6	530,7 *
				265,0	315,7
				322,0	304,7
				338,3	339,7 *
				483,1	471,0
				494,9	465,4

* Im opisthitonischen Krampf entnommen!

CO_2-Menge etwa 45 100,0 cmm. Zur Umrechnung auf zersetztes Azetylcholin dient die Beziehung, daß 100 cmm CO_2 = 815 γ Azetylcholin entsprechen. Es zeigt sich, daß bei der Ernährung unter den Bedingungen der Gefangenschaft die Werte erheblich höher sind und stärker schwanken

[31] Loewi, O., u. H. Hellauer: Pflügers Arch. **240**, 449 (1938).

(zwischen 90,2 und 231,2 cmm CO_2 in 10 Minuten) als bei frisch gefangenen Tauben. Ganz eindeutig geht jedoch der Zusammenhang zwischen der Höhe des Blutesterasegehaltes und der Ernährung aus den in Tabelle 2 zusammengestellten Serumesterasewerten bei reisgefütterten Tauben hervor. Diese Werte schwankten ebenfalls außerordentlich stark (zwischen 265 und 631,4 cmm) bei der ersten Bestimmung, lagen aber immer erheblich über den Werten normaler, in Gefangenschaft gehaltener Tauben und übertrafen die Werte, die man bei frisch gefangenen, freilebenden Tieren findet um etwa das 10fache.

Die starken Schwankungen im Serumesterasegehalt von Tauben, die bei Stallfütterung oder gar bei reiner Reiskost gehalten wurden, sind

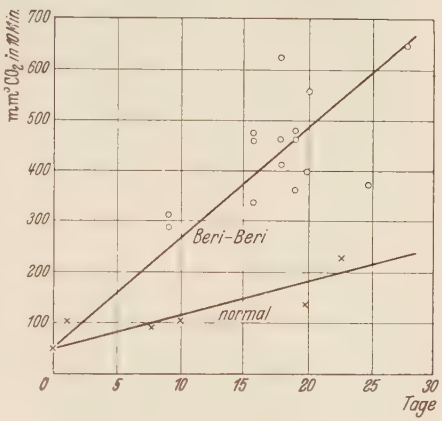


Abb. 1. Die Ordinate gibt in cmm die nach der Ammonschen Methode in je 10 Minuten von 0,5 ccm Taubenserum ausgetriebene Menge CO_2 bei 0° und 760 mm Hg Barometerstand an. Da 100 cmm CO_2 einer hydrolytischen Spaltung von 815 γ Azetylcholin entsprechen, ergibt sich hieraus der Esterasegehalt des Serums. Die Abszisse gibt bei den mit Ringen bezeichneten Werten die Tage seit Beginn der reinen Reisfütterung an („Beriberi-Tauben"), bei den mit Kreuzen bezeichneten Werten die Tage nach Beginn einer Körnerfutterdiät („Normaltauben"). Der mit einem Kreuz bezeichnete Schnittpunkt auf der Ordinate gibt den Esterasewert an, der bei 5 völlig übereinstimmenden, frisch eingefangenen Tauben gefunden wurde. Er stellt somit den eigentlichen „Normalwert" dar.

denen ähnlich, die man z. B. im menschlichen Serum gefunden hat. Wir haben daher versucht, Gründe dafür zu finden. Es ist bekannt, daß die Erythrocyten von B_1-avitaminotischen Tauben gegen hämolysierende Einflüsse empfindlicher sind als die normaler Tiere[33]. Dies konnte aber keinen Einfluß auf die Fermentaktivität der Seren haben, da sowohl von normalen, als auch von reisgefütterten Tauben gelegentlich stärker hämolytische Seren zur Untersuchung kamen, ohne daß dabei Unterschiede im Spaltungsvermögen gegenüber nicht hämolytischen Seren beobachtet wurden.

Der Grund für die starken Schwankungen konnte jedoch eindeutig aufgeklärt werden, wenn der Gehalt an Serumesterase in Abhängigkeit zu der Zeit gesetzt wurde, während der reines Körnerfutter oder Reisfutter gegeben worden war. Dies ist in Abb. 1 geschehen, aus der sich eine Beziehung zu dieser Zeit sowohl für B_1-frei ernährte Tauben, als auch für normale Tauben bei Körnerfutter ergibt. Wir haben daraufhin die Esterasewerte bei ein und demselben Tier wiederholt untersucht und konnten

[32] Ammon, R.: l. c. S. 5, Nr. 2. — [33] Beznak, A. v.: Pflügers Arch. **212**, 246 (1926).

stets den Anstieg der Fermentaktivität verfolgen: So betrug z. B. der Wert bei einer normalen, frisch vom Händler bezogenen Taube am 18. April 1940 46 cmm CO_2. Das Tier wurde auf reines Reisfutter gesetzt, und am 26. April, also nach 8 Tagen, war der Wert auf 310 cmm CO_2 und am 15. Mai, also nach 27 Tagen, sogar auf 640 cmm CO_2 angestiegen. Bei Körnerfutter waren, wie aus Abb. 1 („Normal") hervorgeht, die Veränderungen geringer.

Da es möglich war, daß der Esteraseanstieg nicht auf die Reisfütterung und den Aneurinmangel, sondern nur auf einen allgemeinen Hungerzustand zurückzuführen war, der bei reisgefütterten Tieren wohl stets das Bild des reinen Vitaminmangels trübt, haben wir einer Taube, die seit einem Monat im Institut gehalten wurde und daher den hohen Esterasewert von 225 cmm aufwies, am 12. April die Nahrung völlig entzogen, wobei das Trinkwasser nicht eingeschränkt wurde. Am 17. April (also am 5. Hungertag) wurde ein Serumesterasewert von 165 cmm und am 19. April (also am 7. Hungertag) ein Wert von 167 cmm gefunden, worauf der Versuch abgebrochen wurde. Reiner Hunger führt demnach nicht zu einer Vermehrung, sondern sogar zu einer Verminderung der Serumesterase.

Es war noch zu untersuchen, ob die beobachteten Veränderungen irgendeine Beziehung zu dem hervorstechendsten Symptom der Tauben-Beriberi, nämlich zu den opisthonischen Krämpfen haben. In dem Alkaloid Physostigmin besitzen wir ein geradezu spezifisches Hemmungsmittel der Serumesterase, dementsprechend wird auch die erhöhte Esterasewirkung des Beriberiserums durch Zusatz von 0,1 ccm einer 1%igen Eserinlösung völlig gehemmt.

Wir haben daher die Wirkung des Physostigmins auf normale und reisgefütterte Tauben untersucht. Die hohe Empfindlichkeit von Tauben gegen das Alkaloid hat H. H. Meyer[34] hervorgehoben. Wir fanden bei normalen Tauben, daß die intramuskuläre Injektion von 0,1 cmm einer 1‰igen Lösung von Physostigminum salicylicum neben den von höheren Tieren her bekannten Erscheinungen, wie Speichelfluß, Dyspnoe und Muskelzittern, vor allem eine eigentümliche Schwäche der Schenkelmuskulatur und eine Kontraktur der Zehenbeuger hervorruft. Etwa 15 Minuten nach der Injektion können die Tauben nicht mehr gehen: sie sitzen geduckt am Boden und fallen bei jedem Laufversuch nach vorne, wobei die Krallen so stark gebeugt sind, daß die Phalangen den Boden mit der Dorsalseite berühren. Das Fliegen ist in diesem Stadium oft noch möglich, doch prallen die Vögel bei jedem Landungsversuch ungeschickt an. Bei stärkerer Vergiftung gehen die Tiere unter wachsender Dyspnoe zugrunde, ohne daß dabei jemals epileptiforme Krämpfe wie nach zentral erregenden Stoffen auftreten. Die Dosis von 0,1 ccm 1‰ige Eserinlösung

[34] Meyer, H. H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **32**, 101 (1893).

wird von normalen Tauben stets vertragen; nach 1—2 Stunden tritt völlige Erholung ein.

Ganz anders verhalten sich die reisgefütterten Tauben:

Wie aus Abb. 2 und 3 hervorgeht, kann man bei solchen Tieren den typischen Beriberi-Anfall durch intramuskuläre Eserininjektion auslösen. Bei geeigneten Tieren genügen hierzu 0,05 ccm der 1‰igen Lösung. Neben den Zeichen von Muskelschwäche und der Kontraktur der Zehenbeuger tritt nach etwa 15 Minuten ein starker und anhaltender Opisthotonus auf, der besonders, wenn man die Tiere mit der Hand hin und her bewegt, plötzlich in heftige Krämpfe übergeht, wobei die Tauben sich bis zur völligen Erschöpfung nach rückwärts überschlagen. Bei Ruhe überleben die Tiere den Krampfanfall und zeigen nach einigen Stunden nur noch leichten Opisthotonus, doch haben wir Tauben mit Dosen von 0,05 ccm 1‰iger Eserinlösung verloren, die bei normalen Tauben nur eine leichte Vergiftung herbeiführen.

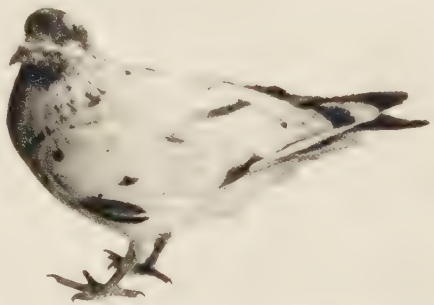


Abb. 2. Taube, die seit 20 Tagen auf reine Reiskost gesetzt war. (Kein Beriberi-Krampf, sondern nur Ataxie.)

Abb. 3. Die Taube von Abb. 2 15 Minuten später, 10 Minuten nach intramuskulärer Injektion von 0,08 ccm einer 1‰igen Lösung von Physostigminum salicylicum. (Für Beriberi typischer opisthotonischer Krampf.)

Bei Versuchen, die wir mit zentral erregenden Krampfgiften (Cardiazol 0,1 ccm 10%iger Lösung i. m.) angestellt haben, war das Vergiftungsbild ein durchaus verschiedenes: Es traten auch bei reisgefütterten Tauben Krämpfe ein, wobei aber nie Opisthotonus beobachtet wurde, sondern der Kopf meist flektiert war. Nur in einem Falle haben wir nach einer tödlichen Cardiazoldosis bei einem reisgefütterten Vogel einen Überschlag nach rückwärts gesehen.

So auffällig die Physostigminempfindlichkeit der Beriberi-Tauben an sich ist, so möchten wir doch aus den geschilderten Versuchen nicht allzuviel über die Bedeutung der Blutesterase bei der Avitaminose aussagen. Zunächst bleibt es ja fraglich, ob die Einwirkung des Physostigmins, wie

wir vermuten möchten, eine zentrale ist, oder ob sie nur die Krämpfe durch Beeinflussung der motorischen Endplatten begünstigt. In beiden Fällen dürfte der Blutesterasegehalt keine wesentliche Rolle spielen. In diesem Sinne spricht vor allem die Tatsache, daß im normalen Verlauf der Avitaminose die Krämpfe nicht bei Ausschaltung der Esterase durch Physostigmin, sondern gerade bei hohen Werten auftreten. Die beschriebene Auslösung der Beriberi-Krämpfe gelingt auch nur bei fortgeschrittenen Stadien der Avitaminose, wenn die Tauben, besonders unmittelbar nach der Reisfütterung, schon starke Ataxie zeigen. Dagegen ist, wie oben gezeigt wurde, die Blutesterase schon nach 8—10tägiger Reisfütterung deutlich erhöht; also zu einer Zeit, in der die Reaktion auf Eserin noch durchaus normal ist.

Es scheint auch zwischen der absoluten Höhe der Serumesterase und dem Auftreten der Krämpfe kein direkter Zusammenhang zu bestehen,

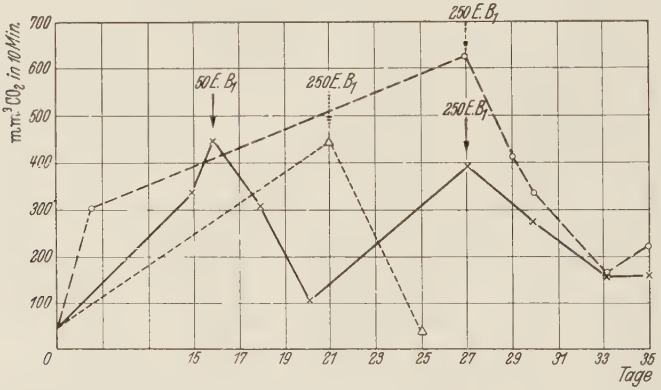


Abb. 4. Die Beeinflussung der Serumesterasewerte reisgefütterter Tauben durch Aneurin. Ordinate und Abszisse wie in Abb. 1. Die ersten 15 Tage der Reisfütterung sind zur Raumsparung zusammengedrängt. Die Werte stammen von 3 verschiedenen Tauben (siehe Text!).

denn bei einer Taube betrug der Wert in diesem Zeitpunkt 338,7 cmm, bei einer anderen wurden noch bei dem Wert von 663,4 cmm CO_2 keinerlei Krämpfe beobachtet. Immerhin stieg im ersten Falle bei bestehenden Krämpfen der Wert innerhalb von 24 Stunden auf 461 cmm, was sonst ganz ungewöhnlich ist, und wir haben auch niemals bei normalen, oder annähernd normalen Werten Beriberi-Krämpfe gesehen.

Um sicher zu gehen, daß die Erhöhung der Serumesterasewerte nicht durch eine Eindickung des Serums vorgetäuscht sein könnte, haben wir von normalen und von Avitaminose-Seren Trockenbestimmungen bei 100° C durchgeführt: Der Rückstand von 1 ccm Serum wog bei zwei normalen Tauben 0,0600 und 0,0591 g, bei zwei Tauben, die Beriberi-Krämpfe hatten, wog er 0,0725 und 0,0593 g. Im ersten Falle mochte also eine geringe, für unsere Befunde unwesentliche Eindickung stattgefunden haben, im

zweiten war der Wert durchaus normal, so daß Bluteindickung als ein Faktor für die Veränderung der Esteraseaktivität auszuschließen ist.

Den sichersten Beweis dafür, daß die beobachtete Veränderung auf einen Mangel an Vitamin B_1 zurückzuführen ist, bildet jedoch die Tatsache, daß man, wie aus Abb. 4 ersichtlich ist, diese Erscheinung durch Zufuhr von kristallisiertem Aneurin rückgängig machen kann, obwohl die Reisfütterung andauert. Wir verwendeten hierzu entweder Betaxin forte in Ampullen oder stellten aus kristallisierter Substanz eine Lösung selbst her. Dabei ist auffällig, daß die Werte der Serumesterase nach Aneurinbehandlung nur langsam zur Norm zurückkehren, während die Krämpfe rasch beseitigt werden. Auch dies wieder ein Hinweis darauf, daß die Höhe der Esterase keinen direkten Zusammenhang mit den Krämpfen hat. Es wurde sogar gelegentlich beobachtet, daß 12 Stunden nach Aneurininjektion die Esterasewerte noch höher sein konnten als vorher. Zwei Tage nach Zufuhr des Vitamins hat der Wert stets abgenommen, doch bleibt er gegenüber der Norm, die erst nach 3—5 Tagen erreicht wird, noch erhöht. Wird die reine Reisfütterung fortgesetzt, dann kann nach kleinen Aneuringaben der Esterasewert wieder ansteigen, wie dies aus einem Versuch der Abb. 4 hervorgeht. Es handelte sich hier um ein Tier, das bereits 16 Tage nach der Reisfütterung opisthotonische Krämpfe bekam, und dessen Serumesterasewert zu dieser Zeit von 50,4 auf 474 cmm CO_2 angestiegen war. Nach 50 E. Aneurin verschwanden die Krämpfe in wenigen Stunden und der Esterasewert sank in 4 Tagen auf 94 ab, stieg aber bei weiterer Reisfütterung am 27. Tag wieder auf 463 cmm an, wobei auch die Krämpfe erneut auftraten. Eine weitere Injektion, diesmal von 250 E. (Betaxin), brachte nochmals nach 6 Tagen den Esterasewert auf 160 cmm herunter und die Krämpfe waren wie beim erstenmal nach 12 Stunden völlig geheilt.

Besprechung der Ergebnisse.

Die beschriebene Erhöhung der Serumesterase unter Vitamin B_1-Mangel beansprucht nach verschiedener Richtung hin Interesse: Einmal zeigt es sich, daß bei der Taubenberiberi das rasche Abklingen der opisthotonischen Krämpfe nach Aneurin noch nicht eine Wiederherstellung normaler Stoffwechselverhältnisse bedeutet. Die Krämpfe sind nur eine, wenn auch kennzeichnende Erscheinung dieser Mangelkrankheit; sie können aber bekanntlich oft auch nach der dritten und vierten Woche der Reisfütterung fehlen, während der Anstieg in der Serumesterase stets mit Sicherheit eintritt. Durch Injektion von Physostigmin konnten wir allerdings auch bei solchen Tauben die Krämpfe hervorrufen, die bei Reisfütterung allein krampflos blieben. Möglicherweise unterdrückt die vermehrte Fermentaktivität das Auftreten größerer Mengen des Erregungsstoffes Azetylcholin im Zentralnervensystem und damit die Krämpfe.

Dies wird auch durch den Befund normaler Esterasewerte im Gehirnbrei nicht ausgeschlossen.

Es ist jedenfalls möglich, daß die Fälle von Azetylcholinunterempfindlichkeit bei Aneurinmangel, die wir eingangs erwähnten, zum Teil durch unseren Befund erklärt werden.

Wenn man in die Beziehungen zwischen der Höhe der Serumesterase und dem Azetylcholinstoffwechsel im Gewebe eindringen will, dann wird zunächst festzustellen sein, aus welchem Gewebe die Esterase, die man im Blut findet, stammt. Bisher hat man[35] nur für das Nervensystem einen Zusammenhang zwischen Funktion und Esterasegehalt nachweisen können und es liegt daher nahe anzunehmen, daß die unter B_1-Mangel im Nervengewebe auftretenden morphologischen Veränderungen an der vermehrten Abgabe des Ferments beteiligt sind. Der Gehalt des Nervensystems selbst braucht hierbei nicht verändert zu sein. Einen direkten Beweis für Beziehungen zwischen der Tätigkeit cholinergischer Nerven und dem Gehalt des Serums an Cholinesterase haben kürzlich die interessanten Versuche von F. Zinnitz[36] erbracht, der bei langdauernder Reizung des Vagus bei Katzen eine Abnahme der Serumesterase um mehr als ein Drittel beobachtet hat. Zinnitz kommt zu dem Schluß, daß es die Blutdruckhöhe an sich sei, die reflektorisch den Serumesterasegehalt reguliere. Wir möchten diese Befunde dahin deuten, daß bei der Vagusreizung an den Nervenenden im Gewebe Azetylcholin entsteht, das sogleich mit einem Teil der dort konzentrierten Esterase eine Ferment-Substratverbindung eingeht, so daß weniger freie Esterase an das Blut abgegeben würde.

Dieser Deutung widerspricht der Befund von Zinnitz nicht, daß das Phänomen bei Spinalkatzen nicht auftritt: Wenn bei Durchtrennung des Rückenmarkes die quergestreifte Muskulatur einen Großteil ihres Tonus einbüßt, dann nur deshalb, weil an den Endplatten der motorischen Nerven weniger Azetylcholin frei wird. Unter diesen Umständen sollte nach unserer Auffassung mehr Cholinesterase im Blut auftreten und dieser Vorgang würde dem Zinnitzschen Phänomen entgegengerichtet sein. Alle diese Fragen harren noch einer experimentellen Klärung, ebenso wie die Beeinflussung des Kreislaufes durch den Esterasegehalt des Serums.

Unsere Beobachtung stellt nach unserer Auffassung sozusagen das Negativum der Zinnitzschen dar. Wenn man sich an die in der Einleitung angedeuteten Zusammenhänge zwischen dem Kohlehydratstoffwechsel und der Bildung des Azetylcholins einerseits und dem Vitamin B_1 andererseits erinnert, dann versteht man, daß an den Nervenendigungen (bzw. in den Nerven) reisgefütterter Tauben wenig Azetylcholin entstehen dürfte, weil es an dem Essigsäureanteil für seine Synthese gebricht. Bei unverminderter Konzentration des spaltenden (und auch aufbauenden) Ferments bliebe daher ein Überschuß desselben ungebunden und würde an das Serum abgegeben.

[35] Brücke, F. Th. v.: J. Physiol. (Brit.) **89**, 429 (1937); **91**, 375 (1938). — [36] Zinnitz, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 316 (1940).

Abgesehen von den theoretischen Möglichkeiten könnte aber die Erhöhung der Serumesterase bei Aneurinmangel auch praktische Bedeutung gewinnen: Wir haben gezeigt, daß bei Tieren schon eine leichte B_1-Hypovitaminose zu beträchtlicher Fermentzunahme führen kann (Tauben auf Körnerfutter zeigen ja nach den Befunden von E. Abderhalden und E. Wertheimer[37] besonders bei Traubenzuckerbelastung deutliche Zeichen von Avitaminose). Untersuchungen am Menschen von E. Stedman und E. Stedman[38], von C. S. Hicks und M. E. Mac Kay[39], von R. Freudenberg und F. K. Redlich[40] sowie von M. H. Roepke[41] und R. Ammon und G. Voss[42] haben ergeben, daß die Esterasewerte im menschlichen Blut erheblich schwanken. Es wäre wohl möglich, daß diäthetische Faktoren auch beim Menschen für die Höhe dieser Werte Bedeutung haben. Daß diese Faktoren in der Richtung eines B_1-Mangels liegen könnten, wird durch Befunde von W. Antopol, L. Tuchmann und A. Schifrin[43] nahegelegt, die bei schwerem Diabetes und bei Hyperthyreose konstant erhöhte Werte fanden. Auch eigene Versuche, die fortgesetzt werden, deuten auf einen Zusammenhang zwischen Höhe der Serumesterase und dem Aneurinstoffwechsel beim Menschen hin.

Zusammenfassung.

1. Bei reisgefütterten Tauben kommt es zu einer Erhöhung der Cholinesterasewerte im Serum, die gegenüber frisch eingefangenen Tieren auf das 10fache ansteigen können.

2. Auch bei Tauben, die auf reines Körnerfutter gesetzt werden, steigt als Ausdruck einer B_1-Hypovitaminose der Esterasegehalt leicht an.

3. Aneurinzufuhr kann in einigen Tagen die Serumesterasewerte zur Norm zurückführen.

4. Physostigmin vermag bei reisgefütterten Tauben den opisthotonischen Beriberikrampf auszulösen, noch bevor er spontan ausbricht.

5. Die Beziehungen zwischen den erhobenen Befunden und dem Azetylcholinstoffwechsel werden besprochen.

[37] Abderhalden, E., u. E. Wertheimer: Pflügers Arch. **235**, 53 (1935). — [38] Stedman, E., u. E. Stedman: Biochem. J. **29**, 2107 (1935); a. a. O. [39] Hicks, St. C., u. M. E. MacKay: Austral. J. exper. Biol. a. med. Sci. **14**, 275 (1936). — [40] Freudenberg, R., u. F. K. Redlich: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 645 (1938). — [41] Roepke, M. H.: J. Pharmacol. (Am.) **59**, 264 (1937). — [42] Ammon, R., u. G. Voss: Pflügers Arch. **235**, 393 (1935). — [43] Antopol, W., L. Tuchmann u. A. Schifrin: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **36**, 46 (1937).

Aus dem Physiologischen Institut der Wiener Universität.

Die Konstanz der Stromdosiskurven im mehrtägigen Versuch.

Von

F. K. Köllensperger.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. August 1940.)

Mit dem Stromdosisverfahren nach Scheminzky und Mitarbeitern[1] ist eine Methode gegeben, die die Wirkung der verschiedensten zentral angreifenden Pharmaka und ähnlich wirkenden Stoffe anderer Natur im Froschversuch quantitativ zu verfolgen und kurvenmäßig darzustellen ermöglicht. Diese Art einer pharmakologischen Prüfung beruht auf dem Befund, daß ein galvanischer Strom, wenn er absteigend das Zentralnervensystem der Länge nach durchfließt, bei einer gewissen Stromstärke eine echte Lähmung (Galvanonarkose[2]) hervorruft; wenn er aber aufsteigend durch das Zentralnervensystem geleitet wird, löst er einen Allgemeinerregungszustand mit tonischer Muskelkontraktion (galvanischer Krampf[3]) aus. Während der Galvanonarkose können unter Wasser durchströmte Frösche z. B. auf den Rücken gedreht und in dieser unnatürlichen Haltung ohne Abwehrbewegungen gehalten werden, beim galvanischen Krampf kommt es zu einem kennzeichnenden Streckkrampf der Hinterbeine, bei wenig höheren Strommengen durch die allgemeinen Muskelanspannungen auch zu tonischen Versteifungen des ganzen Tieres. Diese beiden – vollständig reversiblen – Folgen einer Durchströmung treten je nach der Stromrichtung bei verschieden großer Stromstärke (Schwellenstromdosis) auf, die aber bei beliebig oft wiederholter Prüfung in der betreffenden Stromrichtung immer ungefähr gleich bleibt (siehe später); diese Stromschwellen werden aber dann verändert, wenn den Tieren zentral wirkende Stoffe zugeführt werden (Scheminzky[1]): die Wirkung auch an sich noch unterschwelliger Mengen solcher Mittel addiert sich nämlich algebraisch mit der des galvanischen Stromes: zentral lähmende Stoffe senken daher vorübergehend die Schwellen für die Galvanonarkose, weil sie synergisch mit dem absteigenden Strom wirken, erhöhen in spiegelbildlicher Art dagegen die Stromdosen für den galvanischen Krampf, entsprechend ihrem Antagonismus zum aufsteigenden Strom. Zentral

[1] Hinweise auf das einschlägige Schrifttum finden sich bei F. Scheminzky: Pflügers Arch. **202**, 200 (1924); **237**, 273 (1936); Adler, P., u. Cl. Hradecky: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 541 (1936); Köllensperger, F. K., u. F. Scheminzky: Pflügers Arch. **241**, 38 (1938). — [2] Diese Bezeichnung wurde von Blasius und Schweizer eingeführt (Pflügers Arch. **53**, 493 (1893). — [3] Köllensperger, F. K., u. F. Scheminzky: Pflügers Arch. **241**, 38 (1938).

erregende Mittel müssen andererseits gerade umgekehrt, in entgegengesetzter Richtung die Stromdosen beeinflussen.

Die kurvenmäßige Darstellung der Schwellenstromdosen für die Galvanonarkose oder den galvanischen Krampf, aufgenommen z. B. alle 10 Minuten nach der Einspritzung des zentral wirksamen Stoffes, ergibt daher eine „Stromdosiskurve" (Wirkungskurve), aus der Kennzeichen für die Wirkungsart, für die Dauer und Tiefe der Beeinflussung durch das betreffende Pharmakon ersehen werden können.

Das Stromdosisverfahren ermöglicht somit im kurzdauernden Versuch am Frosch eine Reihe wertvoller Vergleichszahlen zur Beurteilung zentral angreifender Pharmaka zu gewinnen. Für die praktische Verwertung dieses Verfahrens war es nun wichtig, festzustellen, ob diese — ein bestimmtes Pharmakon kennzeichnenden — Stromdosiskurven eine absolute Konstanz besitzen, d. h. eben, ob die Kurven für die Galvanonarkose oder den galvanischen Krampf beim gleichen Mittel, in gleicher Dosierung und auch bei denselben Tieren an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen immer wieder in gleicher Art und Form erhalten werden können. Gelegentlich von Untersuchungen über die zentrale Wirkung von Keimdrüsenhormonen bei wiederholter Zufuhr[4] wurden auch Vergleichsversuche mit zentral-lähmenden und zentral-erregenden Stoffen ausgeführt, die die oben erörterte Frage zu beantworten ermöglichen.

Die — neben einigen männlichen Tieren meist weiblichen — Frösche (R. esc.) wurden in der üblichen Art unter Wasser durchströmt (Glaswanne mit seitlich eingehängten Kohlenelektroden). An jedem Tier wurde 10 Tage hindurch, an jedem Tage bei den Kontrolltieren mindestens 10mal, bei den Versuchstieren bis zum sicheren Abklingen der Beeinflussung, in Zeitabständen von je 10 Minuten die Schwellenstromdosis für eine der beiden Stromwirkungen — Galvanonarkose oder galvanischer Krampf — bestimmt. Je 4 Tiere bildeten zusammen einen Einzelversuch. Diese 4 Frösche wurden vollkommen gleichartig behandelt; sie blieben entweder gänzlich unbeeinflußt (Kontrollen) oder erhielten jeden Tag nach einigen Vorbestimmungen der Schwellenstromdosen 0,25 ccm Ringerlösung oder eine bestimmte Menge eines zentral angreifenden Pharmakons in den Rückenlymphsack eingespritzt. Alle Tiere eines Versuchs wurden immer nur in einer Stromrichtung durchströmt. Zur Feststellung der Wirkung des untersuchten Stoffes auf die Galvanonarkoseschwelle und auf die Schwelle für den galvanischen Krampf waren daher immer zwei Versuchsreihen (mit 2 mal 4 Tieren) erforderlich.

Da jeder Versuch mit mehreren Tieren ausgeführt wurde, ist die Bildung eines Mittelwertes je Meßzeitpunkt notwendig; und da ferner die einzelnen Frösche je nach der Körpergröße, dem physiologischen Zustand und sonstigen Faktoren verschiedene absolute Stromdosen für die Galvanonarkose oder den galvanischen Krampf benötigen, so müssen die Einzelmessungen vor der Bildung des Mittelwertes auf ein gemeinsames Maß gebracht werden. Zu diesem Zweck wird daher die Stromdosis, nach deren Bestimmung die Einspritzung des zu untersuchenden Mittels erfolgte, gleich 100 gesetzt und alle später bestimmten im entsprechenden Ver-

[4] Köllensperger, F. K.: Biochem. Z. **304**, 90 (1940).

hältnis, also in Prozenten des Erstwertes ausgedrückt. Die 4 Prozentwerte je Meßzeitpunkt geben dann die Grundlage für die Mittelwertsbildung; alle Mittelwerte je Meßzeitpunkt werden in ein entsprechendes Koordinatensystem eingetragen und liefern dann die Stromdosiskurve nach der Zeit für den betreffenden Versuch.

Ergebnisse.

Die Kontrollversuche an sonst unbeeinflußt gebliebenen Tieren zeigten, daß die Schwellenwerte für die Galvanonarkose und den galvanischen Krampf beim gleichen Tier auch an aufeinanderfolgenden Tagen praktisch immer wieder dieselben sind: in der Gesamtversuchszeit von 10 Tagen streuten die Werte nur wie im Einzelversuch im Ausmaß von $\pm$ 5%. Das gleiche konnte bei jenen Tieren festgestellt werden, denen täglich 0,25 ccm Ringerlösung in den Rückenlymphsack eingespritzt worden war. Auch die Ringerlösung veränderte daher weder die Stromdosis unmittelbar nach der Injektion, noch zeigte sich eine Wirkung als Folge der täglich wiederholten Einspritzungen.

Von zentral-lähmenden Stoffen wurde Avertin (Bayer) in einer Menge von 0,025 g/kg Tier in einem Volumen von 0,25 ccm (entsprechend der halben Dosis efficax minima) täglich eingespritzt, ferner in anderen Versuchsreihen Atempol (Norgine)[5] (wieder halbe Dosis efficax minima, d. i. 0,02 g je kg Frosch im Volumen von 1,0 ccm). Zur Prüfung zentral-erregender Stoffe wurde Strychnin in der Dosierung von 0,5 mg/kg Tier in 0,25 ccm herangezogen. Alle Stoffe wurden in Ringer gelöst. Die Prüfung erstreckte sich auf 10 aufeinanderfolgende Tage. In den hier wiedergegebenen Abbildungen sind nur die Befunde für die ersten 5 Versuchstage eingetragen, um das Bild der Kurvenscharen nicht unübersichtlich werden zu lassen; die Ergebnisse an den weiteren 5 Tagen waren aber vollkommen gleich denjenigen der ersten Versuchszeit.

Nach den beigegebenen Abbildungen senkte das zentral lähmende Atempol (Abb. 1) seiner pharmakologischen Wirksamkeit entsprechend — vorübergehend die Stromdosis für die Galvanonarkose, während es die für den galvanischen Krampf erhöhte; Strychnin (Abb. 2) wirkte gerade umgekehrt: es erhöhte durch Wirkungsantagonismus zum absteigenden Strom vorübergehend die Stromdosis für die Galvanonarkose, während es durch Wirkungsaddition die Schwelle für den galvanischen Krampf vorübergehend erniedrigte. Die gleichen Ergebnisse wie bei Atempol wurden auch in den hier nicht abgebildeten Versuchen mit Avertin erhalten.

Über diese Befunde hinaus — die die Beobachtungen von Scheminzky und Mitarbeitern (a. a. O.) bestätigten — ergibt sich aus den Abbildungen aber ferner, daß die untersuchten Pharmaka an jedem Tag von neuem zu der gleichen Stromdosiskurve führen, daß diese als Wirkungskurve daher wirklich das betreffende Pharmakon kennzeichnet.

[5] Atempol ist ein Kondensationsprodukt von 3 Molekeln Bromdiäthylacetylcarbamid mit 1 Molekül Citronensäure, gehört demnach in die Gruppe der mit Adalin (Bayer) verwandten Hypnotica.

deshalb etwas Absolutes darstellt; denn die einzelnen übereinander gezeichneten Kurven für die ersten 5 Versuchstage zeigen praktisch denselben Verlauf und fallen daher vollkommen ineinander. Die kleinen Abweichungen sind nur darauf zurückzuführen, daß die einzelnen Meßwerte eine natürliche Streuung zeigen. Aus den Abbildungen geht schließlich noch hervor, daß die Wirkung der geprüften Pharmaka zusammen mit dem absteigenden

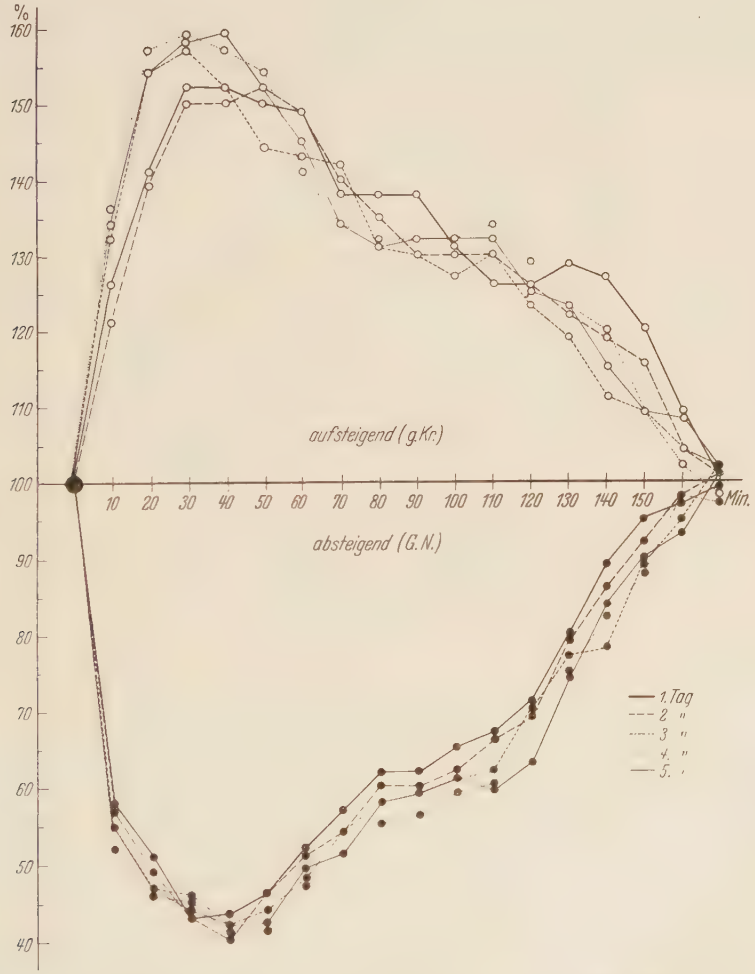


Abb. 1. Verlauf der Stromdosiskurve für die Galvanonarkose (G. N.) im absteigenden Strom (volle schwarze Kreise) und der Stromdosiskurve für den galvanischen Krampf (g. Kr.) im aufsteigenden Strom (leere Kreise) nach Einspritzung von Atempol (Norgine), 0,02 g/kg Frosch. Die übereinander gezeichneten Kurven sind an 5 aufeinanderfolgenden Tagen immer wieder an denselben 4 Versuchstieren aufgenommen worden; die Tiere für die absteigende und die aufsteigende Stromrichtung waren aber nicht die gleichen. Die Stromdosis ist in Prozenten des Ausgangswertes unmittelbar vor der Einspritzung eingetragen; Zeitpunkt der Einspritzung ist der volle schwarze Kreis am Beginn der Kurven. Die Stromdosiskurven für die gleiche Stromrichtung fallen an den einzelnen Versuchstagen praktisch ineinander, sind also miteinander identisch; die Stromdosisverschiebung durch das Pharmakon erfolgt für die absteigende und aufsteigende Stromrichtung in quantitativ gleichem Ausmaß, die Kurven für die beiden Stromrichtungen sind also spiegelbildlich.

galvanischen Strom quantitativ gleich der Wirkung mit dem aufsteigenden Strom ist. Die Kurvenmaxima oder -minima sind nicht nur praktisch gleich weit vom Ausgangswert (100%) entfernt, sondern stellen sich auch zu den gleichen Meßzeitpunkten ein; die Wirkungsdauer der Pharmaka — Länge der Kurven vom Zeitpunkt der Einspritzung bis zur Rückkehr zum Ausgangswert — ist für beide Stromrichtungen gleich lang; schließlich zeigen die mit beiden Stromrichtungen aufgenommenen Kurven auch symmetrische Gestalt: dies ergibt sich z. B. u. a. daraus, daß beim Atempol (Abb. 1) die Stufe[6] im absteigenden Ast sich sowohl bei der Auf-

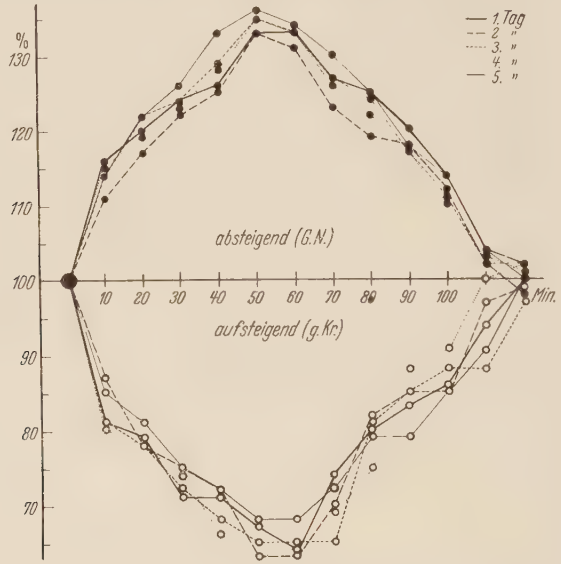


Abb. 2. Verlauf der Stromdosiskurven für die Galvanonarkose (G, N.) im absteigenden Strom (volle schwarze Kreise) und der Stomdosiskurve für den galvanischen Krampf (g. Kr.) im aufsteigenden Strom (leere Kreise) nach Einspritzung von Strychnin nitric., 0,5 mg/kg Frosch. Die übereinander gezeichneten Kurven sind an 5 aufeinanderfolgenden Tagen immer wieder an denselben 4 Versuchstieren aufgenommen worden; die Tiere für die absteigende und die aufsteigende Stromrichtung waren aber nicht die gleichen. Die Stromdosis ist in Prozenten des Ausgangswertes unmittelbar vor der Einspritzung eingetragen; Zeitpunkt der Einspritzung ist der volle schwarze Kreis am Beginn der Kurven. Die Stromdosiskurven für die gleiche Stromrichtung fallen an den einzelnen Versuchstagen praktisch ineinander, sind also miteinander identisch; die Stromdosisverschiebung durch das Pharmakon erfolgt für die absteigende und aufsteigende Stromrichtung in quantitativ gleichem Ausmaß, die Kurven für die beiden Stromrichtungen sind also spiegelbildlich.

nahme der Stromdosiskurve für absteigende als auch für aufsteigende Stromrichtung zeigt. Ähnliches gilt auch für den hier nicht abgebildeten Avertinversuch (siehe folgende Mitteilung). Die Stromdosiskurven, aufgenommen mit den beiden Stromrichtungen, verlaufen also spiegelbildlich. Es ist damit für 3 weitere Pharmaka die quantitativ gleiche

[6] Eine solche Stufe zeigt sich bei allen mit Adalin chemisch identischen oder dem Adalin verwandten Stoffen; vgl. Adler, P., u. Cl. Hradecky: Klin. Wschr. **16**, 519 (1937).

Wirkung in beiden Stromrichtungen nachgewiesen worden, die Scheminzky[7] kürzlich erst erörterte und die dafür spricht, daß der absteigende und der aufsteigende galvanische Strom an denselben Elementen des Froschrückenmarkes angreifen.

Die Tatsache, daß an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen die hier geprüften Mittel — wahrscheinlich aber auch alle anderen Pharmaka mit ähnlicher Wirksamkeit auf das Zentralnervensystem — immer wieder zu gleichen Stromdosiskurven führen, ist noch von einem anderen Gesichtspunkt aus gesehen von Belang: sie zeigt, daß diese Stoffe sich bald nach der Einspritzung in ihrer Wirkung erschöpfen; nach dem Ausklingen der Stromdosisveränderung sind diese Stoffe völlig unwirksam geworden, weil sie gänzlich zerstört, entgiftet oder ausgeschieden sind. Folglich können Neueinspritzungen derselben Mengen auch dieselben Wirkungen wiederholt hervorbringen. Daß eine solche Konstanz der Stromdosiskurve nicht bei allen Stoffen auftreten muß, die die Schwellenwerte für die Galvanonarkose oder den galvanischen Krampf verschieben, haben in eindringlicher Weise andere Versuche des Verfassers[8] gezeigt; solche Mittel hinterlassen aber neben einer sofortigen Beeinflussung der Stromdosen auch eine Nachwirkung, die sich neben einer Wirkungsabschwächung bei neuerlicher Einspritzung auch in einer Veränderung des Ausgangsschwellenwertes für die betreffenden Tiere zu erkennen gibt.

Hat demnach ein Stoff keine solche andauernde Nachwirkung, so muß die Stromdosiskurve an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen immer wieder dasselbe Bild zeigen; ist dies nicht der Fall, so muß außer der sofortigen Wirkung des betreffenden Mittels eben eine Nachwirkung bestehen. Das Stromdosisverfahren ermöglicht daher nicht nur „Sofort-Wirkungen" nach einer Einspritzung zu erfassen, sondern auch Nachwirkungen sichtbar zu machen.

Zusammenfassung.

Die Wirkung zentral angreifender Pharmaka (Strychnin, Atempol und Avertin) wurde nun auch im mehrtägigen Versuch mit dem „Stromdosisverfahren" untersucht. Da die Wirkung (Änderung der Schwellenstromdosen im auf- und absteigenden Strom) nach der Zufuhr eines der Stoffe täglich von denselben Ausgangswerten ausgeht und sich im selben Ausmaß und für die gleiche Zeit einstellt, müssen diese Stromdosiskurven als Wirkungskurven für ein bestimmtes Pharmakon kennzeichnend sein. Besteht keine solche Konstanz der Stromdosiskurven, so müssen diese Änderungen auf eine Dauerwirkung der untersuchten Stoffe im Anschluß an ihren unmittelbar der Zufuhr folgenden Einfluß bezogen werden.

[7] Scheminzky, F.: Pflügers Arch. **243**, 439 (1940). — [8] Köllensperger, F. K.: Biochem. Z. **304**, 90 (1940).

Aus dem Physiologischen Institut der Wiener Universität.

Einfluß des Lösungsmittels auf die Stromdosiskurve.

Von

F. K. Köllensperger.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 1. August 1940.)

In der vorangehenden Mitteilung[1] wurde darauf verwiesen, daß durch das Stromdosisverfahren Scheminzkys[2] bei einem bestimmten Stoff nicht bloß eine Wirksamkeit mit zentralem Angriffspunkt überhaupt ersehen, sondern sogar das Kennzeichnende seiner Wirkung, also vor allem Dauer und Tiefe, aber auch deren Verlauf erkannt und in den „Stromdosiskurven" bildlich dargestellt werden kann. Eine jede von solchen Wirkungskurven zeigt einen charakteristischen Ablauf: Lage des Wirkungshöhepunktes, Steilheit der Veränderungen der Schwellenwerte bis zum und nach dem Erreichen der maximalen Wirkung, allenfalls Zacken, Stufen im Kurvenverlauf und noch anderes sind für jeden Stoff typisch. Alle diese Kennzeichen treten zueinander spiegelbildlich bei der Prüfung der Schwellen in absteigender und aufsteigender Stromrichtung auf. Hier sei noch einmal auf eine Stelle im Wirkungsverlauf des Atempols verwiesen (s. Abb. 1 der vorangehenden Mitteilung)[1]: zwischen der 80. und 100. Minute nach der Zufuhr dieses Stoffes ist eine mehr oder weniger ausgeprägte, stets aber deutliche vorübergehende Abflachung der Kurve eingeschaltet; vor dieser und nachher fällt die Kurve wieder bedeutend steiler ab. Diese Stelle tritt in allen Kurven, an allen Versuchstagen und in beiden Versuchsreihen (absteigende und aufsteigende Durchströmung) an derselben Stelle immer wieder auf. Ähnliches findet man bei Versuchen mit Avertin (Bayer): auch bei diesem Stoff zeigt sich eine kleine Stufe im Verlauf der Wirkung während des ganzen 10tägigen Versuches um die 40.—60. Minute nach der Einspritzung, auch hier bei der Prüfung an allen Versuchstagen und in jeder Durchströmungsrichtung: die Ergebnisse des ersten Versuchstages sind als Beispiel in der hier beigegebenen Abbildung dargestellt. Aus jeder Versuchsreihe (absteigende und aufsteigende galvanische Durchströmung unter Wasser mit je 4 Tieren) wurden auch hier die Prozentmittelwerte kurvenmäßig ausgewertet. Das Avertin wurde in einer Menge von 0,025 g/kg Frosch in Ringer gelöst und den Tieren in den Rückenlymphsack eingespritzt.

Die Tatsache also, daß die Stromdosiskurve für ein bestimmtes pharmakologisch wirksames Mittel mit zentralem Angriffspunkt konstant

---

[1] F. K. Köllensperger: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 226 (1940). — [2] Hinweise auf das einschlägige Schrifttum sind bei F. Scheminzky: Pflügers Arch. **202**, 200 (1924); **237**, 273 (1936); Adler, P., u. Cl. Hradecky: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 541 (1936); Köllensperger, F. K., u. F. Scheminzky: Pflügers Arch. **241**, 38 (1938) gegeben.

bleibt, d. h. daß die Wirkung dieses Stoffes stets im selben Ausmaß und zum selben Zeitpunkt eintritt und darüber hinaus auch noch den gleichen Verlauf zeigt, legt nun die Frage nahe, ob ein derartig kennzeichnender Kurvenablauf auch dann erhalten bleibt, wenn durch ein anderes Lösungsmittel die Aufnahme des betreffenden Stoffes in den Organismus verändert wird. Denn sehen wir von besonderen Fällen ab und berücksichtigen weder vom Einzeltier abhängige Empfindlichkeitsschwankungen noch ähnliches, so hängt bei einem gegebenen Fall die Größe der Beeinflussung durch einen Stoff (und damit die Wirksamkeit schlechthin) von der zur Wirkung gelangenden Stoffkonzentration ab; diese läßt sich zwar verhältnismäßig leicht — wenigstens annähernd — bei lokaler Anwendung erfassen, schwierig wird dies, wenn eine Fernwirkung auf abliegende Organe oder Zellen auftritt. Zu diesem seinen Angriffsort kommt ein Pharmakon meistens eben nur über den Blutweg, ist darin aber schon der Zerstörung, Entgiftung oder Ausscheidung ausgesetzt. Vorher muß es in die Blutbahn aber aufgenommen, resorbiert werden; Voraussetzung dafür ist aber ein Stoff in Lösung. Da nun die früher genannten Faktoren (wie Zerstörung u. a.) doch innerhalb gewisser Grenzen immer annähernd konstant bleiben dürften, so muß die endgültige Wirksamkeit in solchen Versuchen zum größten Teil eben von den Lösungsverhältnissen während der Resorption abhängig sein: denn das Lösungsmittel wird gleichsam zum Träger während der Aufnahme jenes Mittels. Wie sich nun die Wirkung eines Stoffes bei Wechsel des Lösungsmittels ändert, haben vorliegende Vergleichsversuche mit Avertin (Bayer) in Ringer- und Sesamöllösungen gezeigt.

Wir haben zur Prüfung wieder das Stromdosisverfahren nach Scheminsky (s. a. a. O.) verwendet, als Versuchsstoff spritzten wir durch 10 aufeinander folgende Tage 0,025 g/kg Avertin (Bayer) weiblichen Esculenten in den Rückenlymphsack ein und prüften die Wirkung des Stoffes mit einer Versuchsreihe von je 4 Tieren in absteigender Stromrichtung, mit 4 anderen Fröschen in aufsteigender Stromrichtung: einmal nach Einspritzung von Avertin als 1%ige Lösung in Ringer, mit neuen Tieren — wieder in beiden Stromrichtungen — bei Verwendung einer 1%igen Lösung in Öl (Sesamöl, das sich allein zugeführt in anderen Versuchen als völlig unwirksam auf die Stromdosiskurve erwiesen hatte[3]).

In Abb. 1 sind nur die Versuchsergebnisse der 4 Reihen (Avertinlösung in Ringer oder Sesamöl für absteigende oder aufsteigende Durchströmungsrichtung) am ersten Tage dargestellt: die übrigen je 9 Kurven sind mit diesen hier gezeichneten praktisch identisch, da die Einzelwerte für den gleichen Meßzeitpunkt nur um rund ± 5% von den entsprechenden der Abb. 1 abweichen. Man erkennt den Wirkungsunterschied, wie er sich bei geändertem Lösungsmittel bei der Bestimmung der Stromdosen für die Galvanonarkose (G. N.) im absteigenden Strom und völlig

[3] Köllensperger, F. K.: Biochem. Z. **304**, 90 (1940).

spiegelbildlich dazu im aufsteigenden Strom für den galvanischen Krampf (g. Kr.) zeigt: gegenüber dem raschen Einsetzen der Wirkung, aber auch ihrem schnellen Verschwinden, wenn Avertin in Ringer gelöst den Tieren eingespritzt wurde (strichlierte Kurven mit vollen schwarzen Kreisen), tritt der Einfluß bei der Lösung desselben Stoffes in der gleichen Menge in Sesamöl langsamer, verzögert ein, hält aber ein wenig länger

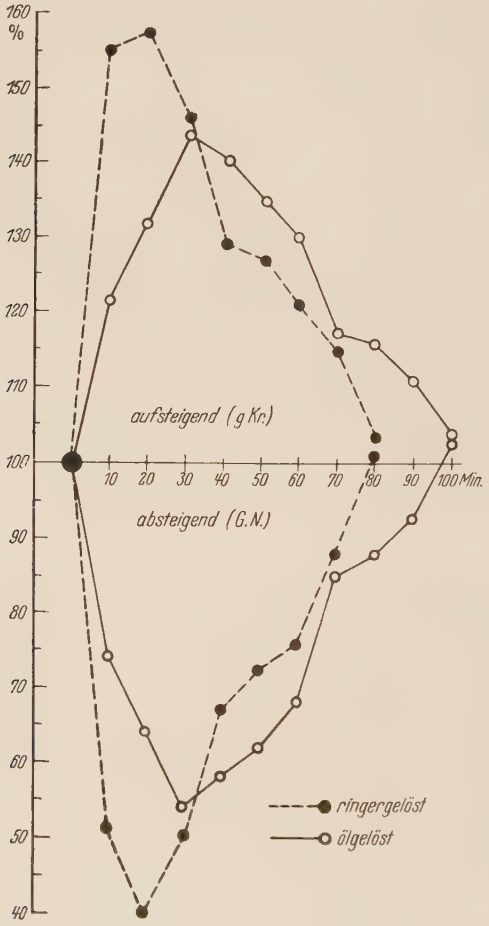


Abb. 1.

Verlauf der Stromdosiskurve für die Galvanonarkose (G. N.) im absteigenden galvanischen Strom und für den galvanischen Krampf (g. Kr.) im aufsteigenden Strom nach Einspritzung von 0,025 g/kg Avertin (Bayer): Für den ersten Versuchstag stellen die strichliert gezeichneten Kurven mit vollen schwarzen Kreisen die Wirkungskurven für Avertin-Ringerlösung dar, die ausgezogenen Kurven mit leeren Kreisen die Wirkungskurven für Avertin-Sesamöllösung. Die bei der Prüfung der Stromschwellen erhaltenen Kurven lassen die verschiedene Wirkungsweise, je nach dem Lösungsmittel deutlich an den Veränderungen die Tiefe und Dauer der Beeinflussung erkennen: die gleiche Wirkung auf den absteigenden wie auf den aufsteigenden Strom führt auch hier zu spiegelbildlichen Wirkungskurven. Die vorübergehende Stufenbildung gegen Ende der Wirkung ist aber bei allen Versuchen (verschiedene Lösungsmittel, verschiedene Stromrichtung) erhalten geblieben.

an: die Wirkungskurve verläuft hier gedehnter (ausgezogene Kurven mit leeren Kreisen). Auffallend ist aber, daß ein besonders kennzeichnendes Merkmal im Kurvenverlauf, der schon früher erwähnte Knick zwischen der 40. und 60. Minute — der bei allen Versuchen mit Ringerlösung auftrat — auch nach Auflösen derselben Menge Avertin in Sesamöl in ähnlicher Form wieder erscheint: nur tritt dieses Charakteristikum jetzt weniger ausgeprägt und später, zwischen der 70. und 90. Minute ein. Einen Zufallsbefund schließen die weiteren nicht eingetragenen Kurven für die anderen Versuchstage aus, da jene sich mit den gezeichneten praktisch völlig decken. Sie ergaben nur eine weitere Ergänzung zu den Ergebnissen der vorangehenden Mitteilung, da dadurch die Konstanz der Stromdosiskurven auch für Lösungen in Öl erwiesen wurde.

So kann es hinsichtlich der Wirkungstiefe und Dauer der Beeinflussung nie gleichgültig sein, in welchem Lösungsmittel ein bestimmter Stoff dem Versuchstier zugeführt wird. Denn die Resorptionsverhältnisse sind bei öliger Lösung ganz andere als bei Lösung in Wasser. Wenn Stoffe leicht resorbiert werden können, so kommen sie zwar rasch in hoher Konzentration in die Blutbahn und weiter an ihren Angriffsort, werden aber auch schnell vom Organismus angegriffen und ausgeschieden: sie rufen also zwar rasch eine stärkere Wirkung hervor, die aber dann verhältnismäßig schnell wieder verschwindet; dies ist der Fall bei der Zufuhr wasser- oder ringergelöster Pharmaka. Werden aber die Stoffe wie im gegebenen Falle in öliger Lösung schwer resorbiert, so können sie im allgemeinen auch nur langsam, über längere Zeit hin aber aus dem Eingabeort in das Blut und an die Erfolgsorgane gelangen: ihre Konzentration im Blute ist ständig geringer, wodurch wiederum ihre rasche Zerstörung oder Ausscheidung verhindert wird. Ihre Wirkung wird demnach nie die Höhe erreichen wie etwa die wassergelöster Stoffe, sie wird aber länger andauern.

Daß oft so auffallende Unterschiede in der Wirkungstiefe auftreten, je nachdem, ob ein Stoff in Wasser oder in Öl gelöst untersucht wurde, erklärt sich leicht aus folgender Überlegung: die Höhe einer Beeinflussung durch einen Stoff ist durch zwei Komponenten gegeben: einen unterschwelligen Mengenanteil, der nur latent wirken kann, und einem im engeren Sinne „wirksamen" Anteil, der eben dann über der Schwelle liegend seinen Einfluß ausüben kann. Nehmen wir als Beispiel an, die Schwellenmenge für irgendeinen Stoff sei 0,4 g, so werden 0,5 g desselben Mittels eine schon deutliche Wirkung entfalten können; eine Erhöhung dieser Dosis um nur $^1/_5$ auf 0,6 g muß aber die endgültige Wirkung um ein bedeutend höheres Ausmaß steigern, da damit die „wirksame" (überschwellige) Menge ja verdoppelt wurde.

Trotz der oben erwähnten Unterschiede bleibt aber die grundsätzliche Wirkung mit ihrem kennzeichnenden Verlauf unter allen Umständen in beiden Durchströmungsrichtungen erhalten.

Aus den vorliegenden Untersuchungen kann geschlossen werden, daß der Einfluß eines bestimmten Pharmakons abhängig ist von der Art des Lösungsmittels, in dem der Stoff geprüft wurde: es verändern sich Wirkungstiefe und Dauer der Beeinflussung durch diese verschiedenen Lösungsverhältnisse. Ölige Lösungen bedingen ein langsameres Erreichen einer zwar geringeren Wirkungstiefe, aber eine längere Wirkungsdauer gegenüber der gleichen Menge desselben Stoffes, wenn es in Wasser oder Ringer gelöst den Tieren eingespritzt wurde. Ein charakteristischer Wirkungsverlauf wird aber auch bei anderer Art der Auflösung beibehalten. Auch diese Erscheinungen treten bei der Prüfung der Schwellen für den galvanischen Krampf im spiegelbildlichen Sinne wie bei der Prüfung der Stromdosen für die Galvanonarkose auf.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.

Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica.

I. Sympathicolytische Wirkung großer Dosen von Veritol.

Von

G. Orzechowski, W. Gronemeyer und G. Malorny.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juni 1940.)

Bei der Betrachtung der Wirkungen der Secalealkaloide fallen immer wieder eigenartige Widersprüche in ihrer Deutung auf. Diese Alkaloide haben Effekte, die in vieler Hinsicht als Sympathicuserregung imponieren. Nun hat aber Dale [1] gefunden, daß man mit dem Ergotoxin die sympathischen Endigungen lähmen kann. Dieser Befund wurde zunächst so aufgefaßt, als bedeute das Ergotoxin für den Sympathicus etwas ganz ähnliches wie das Atropin für den Vagus. Der Unterschied der Eigenwirkung der beiden Stoffe ist jedoch auffällig. Bald erhoben sich auch in der Literatur Stimmen, die entweder mit Nachdruck darauf hinwiesen, daß Ergotamin kein Atropin des Sympathicus sei (Poos [2]), oder die an vielen verschiedenen Einzelwirkungen den Nachweis erbringen wollten, daß das Ergotamin als sympathicomimetische Substanz anzusprechen sei (Bacq [3]). In der Zwischenzeit ist über diese Frage eine ganze Literatur entstanden, auf die hier nicht eingegangen werden soll. Die Auffindung der sympathicuslähmenden Wirkung des Yohimbins und Corynanthins (Raymond-Hamet [4]) hat die Situation für das Verständnis der Wirkungsweise der Ergotoxingruppe keineswegs geklärt. Neuerdings hat man eine ganze Reihe von anderen sympathicolytischen Substanzen gefunden, deren Beziehungen zur Ergotoxingruppe völlig offen ist, die aber auch keine Beziehungen zum Yohimbin oder Corynanthin aufweisen [Diäthylaminomethyl-2-benzodioxan (F. 883) [5], Piperidinomethyl-2-benzodioxan (F. 933) [6], Diäthylaminomethyl-2-cumaran (F. 878) [7], Piperidinomethyl-3-benzomorpholin (1161 F.) [8], Phenoxydimethylaminoäthan (L. 407) [9], Methoxyphenoxyäthanolaminoäthan (L. 416) [10]].

---

[1] J. Physiol. (Brit.) **34**, 163 (1906). — [2] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **126** 307 (1927). — [3] Ann. Physiol. (Fr.) **10**, 487 (1934). — [4] C. r. Acad. Sci. **180**, 2074 (1925); Rev. Pharmacol. (Fr.) **2**, 22 (1936). — [5] Fourneau u. Bovet: Arch. internat. Pharmacodynam. **46**, 178 (1933). — [6] Fourneau u. Bovet: C. r. Soc. Biol. **113**, 388 (1933). — [7] Fourneau, Bovet u. Maderni: Ebenda **115**, 1215 (1934). — [8] Bovet u. Benoit: J. Pharmacie et Chim. **22**, 544 (1935). — [9] Levy u. Ditz: Arch. internat. Pharmacodynam. **47**, 138 (1934). — [10] Daels: Ebenda **61**, 113 (1939).

Seit langer Zeit vertreten wir selbst die Auffassung, daß die Alkaloide der Ergotoxingruppe zu den Sympathicomimeticis zu rechnen sind. Ihrer Anerkennung steht besonders die sympathicolytische Eigenschaft dieser Stoffe im Wege. Sympathicuslähmende Eigenschaften müssen indessen die Anerkennung einer sympathicuserregenden Wirkung nicht notwendigerweise ausschließen. Wir fassen diese scheinbare Diskrepanz vielmehr als ein quantitatives Problem auf. Die übergeordnete Eigenschaft ist immer, daß eine Substanz überhaupt am Sympathicus angreift. Wir nehmen an, daß dem Vorgang des Wirksamwerdens einer chemischen Substanz eine chemische oder physikochemische Reaktion zugrunde liegt. Man kommt immer mehr davon ab, der pharmakologischen Wirkung eine geheimnisvolle Veränderung der Funktion zuzuordnen. Die Auffindung der humoralen Übertragbarkeit von Nervenwirkungen hat in dieser Richtung neue Gesichtspunkte mit sich gebracht. Die feineren Verschiedenheiten der Wirkung der Sympathicomimetica zeigt nach unserer Auffassung sehr deutlich, daß neben der Tatsache des Herantretens der wirksamen Substanzen an die spezifischen Strukturen der sogenannten sympathischen Endigungen auch noch andere Dinge eine Rolle spielen dürften. Es ist naheliegend, daß empfindliche Stoffe nur sehr kurz und bei genügend starker Wirksamkeit stoßartig wirken. Durch weniger wirksame und weniger empfindliche Stoffe kann bei entsprechend höherer Dosierung eine länger andauernde Wirkung erzielt werden. Ihr Ablauf ist in erster Linie vom Potential, nicht mehr so sehr vom Abbau der Substanz abhängig. Dagegen muß sich nunmehr die Haftfähigkeit der Stoffe in den spezifischen Grenzflächen entscheidend bemerkbar machen. Bei guter Haftfähigkeit muß es möglich sein, die spezifischen Strukturen der sympathischen Endigungen so zu belegen, daß nicht mehr gnügend Platz für später an sie herantretende andere Substanzen vorhanden ist. Ein solcher Zustand führt notwendigerweise zum Verlust der Wirksamkeit dieses Stoffes. Er wird allgemein als Lähmung der sympathischen Endigungen bezeichnet. Neuere Befunde sprechen dafür, daß die primitivere mechanische Vorstellung, wie wir sie durchgeführt haben, Vorteile vor der historischen älteren und allgemein benutzten hat. Navratil[11] konnte zeigen, daß die Bildung des Accelerans-Stoffes bei Reizung des Sympathicus des Kröten- und Esculentenherzens durch Ergotamin nicht verhindert wird. Damit ist die „Lähmung" der sympathischen Endigungen zum mindesten zweifelhaft geworden.

Die in den folgenden Mitteilungen zur Veröffentlichung gelangenden Befunde sollen zur Klärung dieses Problems beitragen. Die eine Reihe wird Vergleiche verschiedener Sympathicomimetica an typischen Wirkungen bringen und Zusammenhänge mit dem Ergotamin suchen. Die andere beschäftigt sich mit dem Problem der Lähmung sympathischer Endigungen durch sympathisch erregende Stoffe. Über die sympathicomimetischen

[11] Pflügers Arch. **217**, 610 (1927).

Eigenschaften der Secalealkaloide liegen schon eine ganze Zahl von systematischen Arbeiten vor. Diese sollen durch unsere Befunde eine Ergänzung erfahren. Dagegen war es unser primäres Ziel, die sympathicuslähmende Wirkung der Secalealkaloide des Nimbus des Besonderen zu berauben. Zunächst hat unser Mitarbeiter Fredrich[12] gezeigt, daß die Besonderheiten der durch Ergotamin verursachten Adrenalinumkehr bei verschiedenen Tierarten wohl auf Tonusverschiedenheiten des Gefäßsystems zurückgeführt werden kann. Wir haben uns jetzt die Aufgabe gestellt, zu zeigen, daß die sympathicuslähmende Wirkung der Secalealkaloide keine Besonderheit darstellt, sondern auf ihre Haftfähigkeit an spezifischen Strukturen zurückzuführen ist.

Wenn unsere eingangs aufgestellte Behauptung zu Recht besteht, daß die Sympathicuslähmung durch geeignete chemische Substanzen auf eine substantielle Blockade der spezifischen Strukturen zurückzuführen ist, dann müssen gerade die Substanzen, die die spezifischen Strukturen in einen Zustand versetzen, der zur Sympathicuserregung führt, auch zu ihrer Blockade führen können. Solche Substanzen sind uns als Sympathicomimetica geläufig und bekanntlich in größerer Anzahl in die Kreislauftherapie eingeführt worden. Voraussetzung für eine substantielle Blockade der spezifischen Grenzflächen ist neben der Fähigkeit zur Reaktion aber noch eine lange Verweildauer der Substanzen am Orte ihres Angriffs. Wir nehmen an, daß die scheinbare Besonderheit der Secalealkaloide auf ihre besondere Affinität (Haftfähigkeit) zum Orte ihres Angriffs zurückzuführen ist. Es ist wahrscheinlich, daß die in die Therapie eingeführten Sympathicomimetica diese Eigenschaft nicht besitzen. Sie würde ihrer therapeutischen Anwendbarkeit nur hinderlich sein, wie aus den im folgenden mitgeteilten Befunden hervorgehen wird. In Verfolgung unserer Vorstellungen ist nämlich zu fordern, daß mit dem Grade der Haftfestigkeit auch die Neigung zur Ausbildung der Tachyphylaxie ansteigt. So ist es nicht verwunderlich, daß die sympathicolytische Wirkung der Sympathicomimetica bisher nicht genauer bekanntgeworden ist: entsprechend ihrer geringeren Haftfähigkeit sind große bis sehr große Dosen erforderlich, um die spezifischen Strukturen abzusättigen. So kommt es auch, daß nur verstreute Berichte über derartige Befunde meist ohne Deutungsversuche in der Literatur zu finden sind. In diesem Falle muß man planmäßig und mit massiven Dosen vorgehen.

Wenn es sich nun herausstellt, daß die sympathicuslähmende, d. h. adrenalinabschwächende Wirkung gewisser Substanzen auf eine Blockade der spezifischen Strukturen mit Stoffen von einem bestimmten Bauprinzip zurückzuführen ist, dann wird die Frage nach Konstitution und Wirkung wieder einmal akut. Diese Frage haben auch wir uns vorgelegt und an einer ganzen Reihe von Substanzen zeigen können, daß tatsächlich struktureller

[12] Inaug.-Diss. Berlin 1935.

Verwandtschaft eine Ähnlichkeit der Wirkung an die Seite tritt, die natürlich nicht immer gleich weit geht.

Wir werden in den folgenden Mitteilungen zeigen, daß man mit allen bekannten und bei uns gebräuchlichen Sympathicomimeticis und mit einer Reihe von diesen chemisch verwandten Stoffen die Wirksamkeit von Adrenalin abschwächen, ja aufheben kann. Zunächst sollen die Befunde mitgeteilt werden, die bereits auf der 14. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft kurz vorgetragen worden sind.

Unsere Aufmerksamkeit wurde durch gewisse Wirkungen des β-(p-Oxyphenyl)-isopropylmethylamins („Veritol"*) erregt. Nach Eichler[13] übertrifft die Dauer der Wirkung des Veritols die einer entsprechenden Dosis von Ephedrin, das bisher als die am längsten wirkende unter den entsprechenden Substanzen galt. Rein[14] berichtet über stundenlang anhaltende Druckerhöhungen nach Veritolgaben bei erniedrigten Ausgangsdrucken. Auch Zipf[15] hebt hervor, daß sich der Blutdruck je nach der Dosierung der Substanz häufig für 1—3 Stunden und länger auf einem erhöhten Niveau hält. Bei intragastraler Zufuhr von 1 mg/kg lag der Blutdruck nach 2 Stunden noch um 50 mm Hg über dem Ausgangswert (Müggе[16]). Müggе führt diese lange Dauer der Wirkung auf die geringe Zerstörbarkeit des Stoffes zurück. Wir nahmen zunächst einmal an, daß es sich dabei auch um Affinitätsfragen handelt, und unsere Befunde haben diese Auffassung gestützt. Indessen sind beide Begriffe innig miteinander verbunden. Die besondere Betonung eines von ihnen gibt nur einen besonderen Standpunkt an, ohne eine eigentliche Gegensätzlichkeit zu enthalten.

Wir[17] haben durch massive Dosen von Veritol nunmehr eine Blockade der sympathischen Endigungen zu erzwingen versucht. Die Untersuchungen wurden an dekapitierten Katzen vorgenommen. Die Dekapitation erfolgte in Äthernarkose unter Verwendung des Ecraseur de Chassaignac. Diese Methode hatte sich uns bereits in früheren Versuchen[18] bewährt. Sie zeichnet sich durch ihre Schnelligkeit aus, zeitraubende Manipulationen wie bei dem operativen Vorgehen werden überflüssig. Bei einiger Übung ist die Abtrennung des Kopfes in 1 Minute vollendet. Es kommt selten zu Blutverlusten über den Blutinhalt des Schädels hinaus. Die Vorpräparationen können in Rückenlage des Tieres durchgeführt werden. Die entstehenden Präparate zeigen wenig Operationsschock und reagieren nach kurzer Zeit zuverlässig. Der Blutdruck wurde im Carotisstumpf nach Hürthle gemessen, die Injektionen wurden in eine freigelegte Beinvene vorgenommen. Zur Vermeidung von Druckschwankungen im Thoraxinnern während der künstlichen Atmung wurde der Brustkorb eröffnet und die

---

* Warenzeichen. Für Überlassung der notwendigen Versuchsmengen der Substanz danken wir der Knoll A.-G. noch einmal verbindlich. Wir werden in der Folge der Einfachheit und Kürze halber den geschützten Namen anwenden.

[13] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937). — [14] Ebenda **187**, 617 (1937). — [15] Ebenda **189**, 679 (1938). — [16] Klin. Wschr. **1937**, S. 1241. — [17] Verh. dtsch. pharmakol. Ges. 1938. — [18] Fredrich: Inaug.-Diss. Berlin 1935.

Luftzufuhr unter Kontrolle des Auges eingestellt. Bei der Injektionsgeschwindigkeit wurde stets größte Gleichmäßigkeit angestrebt. Um unvermeidliche Fehler nachträglich erkennen und berücksichtigen zu können, wurde der Beginn und das Ende der Injektionen elektrisch registriert. Die Reaktionen des Blutdrucks wurden meist nur bis zur Erreichung des Maximums auf das Kymographion gezeichnet, um möglichst viele Einzelprüfungen auf einer Papierbahn zu vereinigen.

In den großangelegten Versuchen von Behrens und Taeger[19] hatte sich eine qualitative Übereinstimmung der Kreislaufwirkungen zwischen Adrenalin und „Sympatol“* ergeben. Der Unterschied in der Wirksamkeit konnte mit Sympatol : Adrenalin = 1 : 100 angegeben werden. Wenn man annimmt, daß die außerordentliche Stärke der Wirkung des Adrenalins auf dessen besonders gute Adsorbierbarkeit in die spezifischen Grenzflächen zurückzuführen ist, dann werden gerade die winzigen Adrenalinmengen in dem steil ansteigenden Schenkel der Adsorptionsisotherme günstigste Adsorptionsbedingungen finden. Es ist sogar weiter anzunehmen, daß für

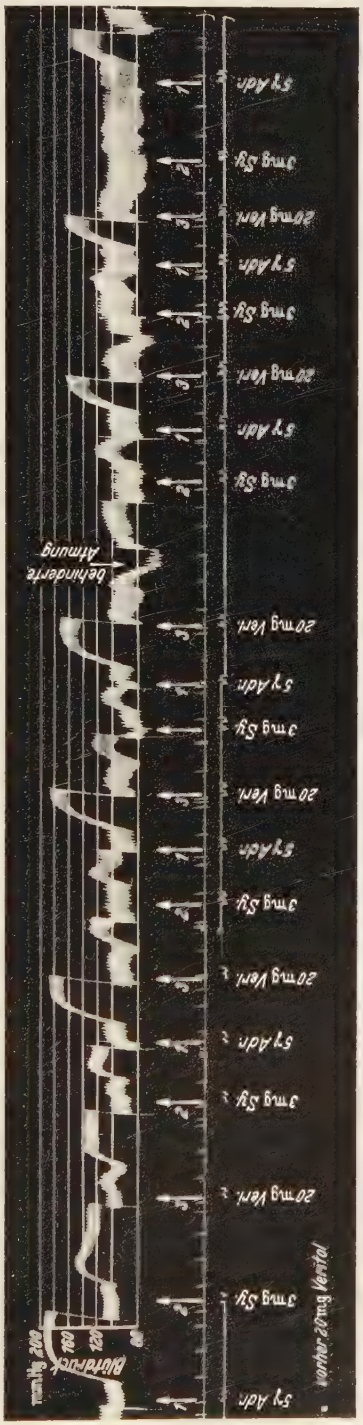


Abb. 1. Blutdruck einer dekapitierten Katze. Das Tier hatte vorher schon insgesamt 20 mg Veritol intravenös erhalten.
1 = 5 γ Veritol
2 = 3 mg Sympatol } intravenös, alle Mengen pro kg Körpergewicht.
3 = 20 mg Veritol }

* Warenzeichen. Für Überlassung der notwendigen Versuchsmengen der Substanz danken wir der Firma C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim, verbindlich. Wir werden in der Folge der Einfachheit und Kürze halber den geschützten Namen anwenden.

[19] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 64 (1935).

das Adrenalin Möglichkeiten der adsorptiven Verdrängung weniger affiner Stoffe gegeben sind. Bei den offenbar weniger affinen Sympatolmolekülen war diese störende Interferenz weniger zu befürchten. Wir haben daher bei unseren ersten Versuchen die Abschwächung der Blutdruckwirkung von Sympatol und Adrenalin studiert und eine leichtere Beeinflußbarkeit des Sympatoleffektes erwartet.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen werden im folgenden an typischen Beispielen gezeigt. Abb. 1 zeigt, daß der Erwartung entsprechend die Abschwächung der Blutdruckwirksamkeit des Sympatols rascher deutlich wird als die des Adrenalins. Bei konsequenter Durchführung der

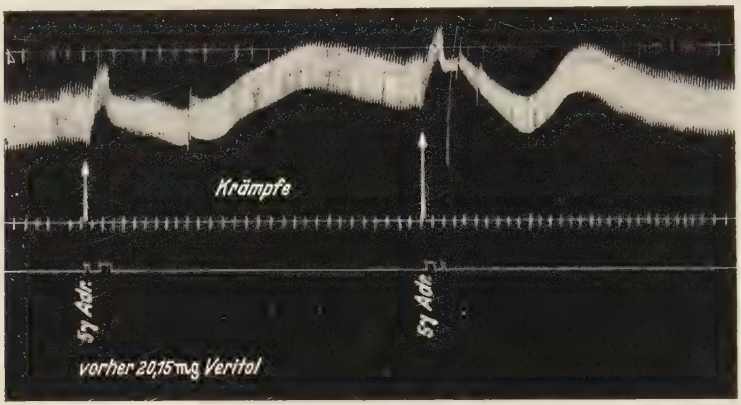


Abb. 2. Dekapitierte Katze. Blutdruck gemessen im Carotisstumpf. Vorher insgesamt 20,15 mg Veritol. Bei ↑ intravenöse Injektion vor 5 γ Adrenalin.

Versuche ließ sich schließlich stets auch die Blutdruckwirksamkeit des Adrenalins völlig beseitigen.

Fredrich[20] konnte zeigen, daß zum Zustandekommen einer Adrenalinumkehr eine gewisse Ausgangshöhe des arteriellen Blutdrucks notwendig ist. Diese Tatsache läßt sich auch an der Mutterkornauswertungsmethode von Burn[21], die von Kreitmair[22] benutzt worden ist, erkennen. Nach diesem Autor werden dazu nach intravenöser Zufuhr der zu untersuchenden Mutterkornbereitung auf der Höhe der Blutdrucksteigerung mehrere Adrenalininjektionen kurz nacheinander gemacht. „Dies geschieht deshalb, weil die erste, manchmal auch die zweite Adrenalininjektion noch nicht umkehrt, während die dritte es tut." Hauschild und Lendle[23] teilen mit, daß sie keinen Einfluß der Blutdruckhöhe auf die Adrenalinumkehr beobachtet haben. In ihren Versuchen ist die Umkehrwirkung auf der Höhe der Gynergenblutdruckwirkung (140—200 mm Hg) ausgelöst worden. Nach Abfall des Blutdrucks auf 50—60 mm Hg erzeugte

[20] a. a. O. — [21] Quart. J. Pharmacy **1929**, zit. n. Kreitmair. — [22] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 179 (1934). — [23] Ebenda **178**, 367 (1935).

Adrenalin trotz vorheriger Anwendung von Ergotamin eine Blutdrucksteigerung. Ob die dabei als für die Wirkung verantwortlich bezeichnete Ätherzufuhr die Wirkung tatsächlich hervorgerufen hat, erscheint deshalb fraglich, weil es nach unseren Erfahrungen auch ohne Äther geht. In günstig gelagerten Fällen haben wir auch nach großen Dosen von Veritol auf der Höhe der Blutdruckwirkung Reaktionen auf Adrenalin erhalten, die dem Bilde der Umkehr sehr ähnlich sind. In Abb. 2 ist ein derartiger Fall wiedergegeben.

In der Literatur findet sich als Bestätigung unserer Befunde, die an Hand der Abb. 1 geschildert wurden, ein Hinweis in der Arbeit von Eichler[24]. Er teilt mit, daß er zweimal durch Vorbehandlung mit Veritol eine Tachyphylaxie für Sympatol beobachtet hat. In der Arbeit von Kiese[25]: „Pharmakologische Untersuchungen an der glatten Muskulatur der Lunge (insbesondere mit einigen ephedrinartigen Substanzen)" ist in Abb. 11 auf S. 361 eine sehr deutliche Adrenalinabschwächung nach 6-Oxy-2-aminoindan-1-ol zu sehen.

Die Bedingungen, die zur Entstehung der Adrenalinumkehr führen, sind noch nicht genau bekannt. Ob es sich dabei um eine Dissoziation von sympathischen Vasokonstriktoren und sympathischen Vasodilatatoren handelt, wie Dale[26] angenommen hat, ist nicht über alle Zweifel erhaben[27]. Cannon und Lyman[28] und v. Uexküll[29] sind der Meinung, daß die Umkehr von Erregung in Hemmung und umgekehrt vom Zustand des Erfolgsorgans direkt abhängig sind. Cannon und Lyman drücken das folgendermaßen aus: „The contracted muscle is prepared for relaxation, the relaxed muscle is prepared for contraction." Sie rechnen damit, daß

Tabelle 1.

Isoliertes Kaninchenohr.

Versuchsbedingungen	Tropfen pro Min.	Min. pro Injektion
Normal	55	3
	54	4
	55	5
1 ccm Ringer	55	2
	54	3
	54	4
1 γ Adrenalin in 1 ccm	55	0
	33	1
	11	2
	10	3
	12	4
	47	21
	55	25
1 mg „Veritol" in 1 ccm	55	0
	52	1
	54	2
	55	5
1 γ Adrenalin in 1 ccm	54	0
	32	1
	11	2
	9	3
	32	6
	48	13
10 mg „Veritol" in 1 ccm	50	0
	53	1
	52	2
	56	5
1 γ Adrenalin in 1 ccm	57	0
	54	1
	47	2
	53	5

[24] a. a. O. — [25] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 361 (1935). — [26] J. Physiol. (Brit.) **32**, LIX (1905); **34**, 169 (1906). — [27] Vgl. Fredrich, a. a. O. — [28] Amer. J. Physiol. **31**, 376 (1912/13). — [29] Zit. n. Streuli, Z. Biol. **66**, 217 (1916).

der eigentliche Grund für diese Eigentümlichkeit im Stoffwechselgeschehen des Muskels zu suchen sei. Lendle [30] lehnt ebenfalls ein „solches Hantieren mit imaginären, unserer Kenntnis entzogenen Hilfsnervenbahnen" ab.

Wir haben uns daher bemüht, die sympathicolytische Wirkung des Veritols an anderen Untersuchungsobjekten wiederzufinden. Der Versuch am isolierten peripheren Gefäß ergab im Läwen-Trendelenburg-Präparat und am Kaninchenohr ähnliche Verhältnisse, wie sie Behrens und Taeger [31] vom Ergotamin für Adrenalin und Sympatol bereits beschrieben haben (Tabelle 1).

Auch am isolierten Dünndarm des Kaninchens ließ sich die Wirkung des Adrenalins durch große Dosen von Veritol aufheben. Ein typisches Beispiel zeigt die Abb. 3. Die Blockade der spezifischen Endigungen ließ

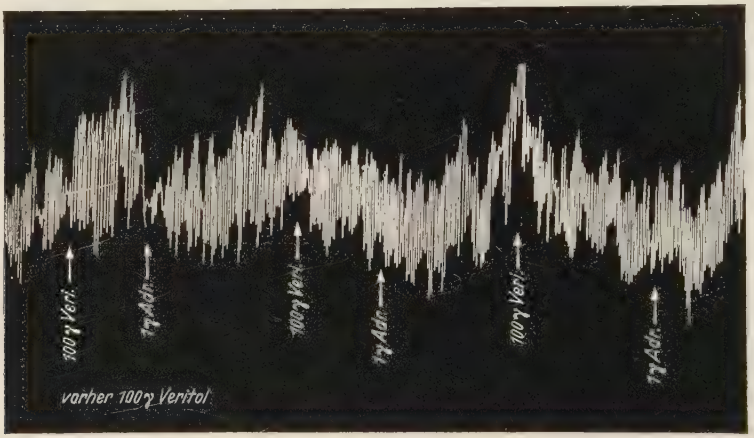


Abb. 3. Isolierter Kaninchendünndarm. Gefäßinhalt 50 ccm. Vorher schon 100 γ Veritol.

sich an diesem Objekt nur durch Anwesenheit relativ sehr großer Mengen der Substanz aufrechterhalten. Man gewinnt hier den Eindruck, daß die Haftfestigkeit des Veritols gemessen am Ergotamin doch nicht sehr groß sein dürfte. Die Wirkung war beim Auswaschen gut reversibel.

Zusammenfassung.

Durch Anwendung großer Dosen von β-(p-Oxyphenyl)-isopropylmethylamin („Veritol") ließen sich bei der dekapitierten Katze die sympathischen Endigungen blockieren, so daß „Sympatol" und Adrenalin keine Wirkung auf den Blutdruck mehr entfalten konnten. In günstigen Fällen kamen Bilder zustande, die einer Adrenalinumkehr sehr ähnlich waren. Auch an isolierten Organen, wie isoliertes Kaninchenohr und isolierter Kaninchendünndarm, wirkte „Veritol" in hoher Dosis sympathicolytisch. Diese Befunde sprechen für die Auffassung, daß die Sympathicuslähmung durch chemische Stoffe eine substantielle Blockade spezifischer Strukturen zur Grundlage hat.

[30] a. a. O. — [31] a. a. O.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.

Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica.

II. Vergleichende Untersuchungen über die Beeinflussung der Adrenalinwirkung durch ephedrinähnlich gebaute Substanzen.

Von

G. Malorny und **G. Orzechowski.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juni 1940.)

In der ersten Mitteilung konnten wir[1] zeigen, daß die Reaktion des Adrenalins auf den Blutdruck der dekapitierten Katze, auf die Gefäße des isolierten Kaninchenohrs und die Muskulatur des isolierten Kaninchen-

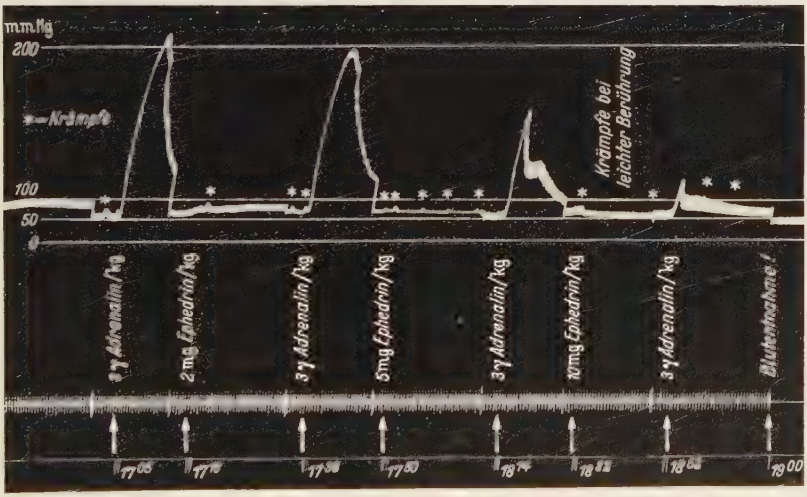


Abb. 1. Blutdruck einer dekapitierten Katze. Körpergewicht 3200 g. Vor Beginn des Kurvenausschnittes 2 mg/kg Ephedrin insgesamt intravenös. Der Blutdruckabfall wurde nicht vollständig aufgezeichnet, Kymo abgestellt.

dünndarms durch hohe Dosen von β-(p-Oxyphenyl)-isopropylmethylamin („Veritol"*) aufgehoben wird. Wie aus vielen Untersuchungen hervor-

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 237 (1940).

* Warenzeichen. Für die freundliche Überlassung der zur Durchführung der Versuche notwendigen Substanzmengen danken wir den Firmen Knoll-Ludwigshafen (Veritol), E. Merck-Darmstadt (l-Ephedrin), Nordmarkwerke (Benzedrin), Temmlerwerke-Berlin-Tempelhof (Pervitin) auch an dieser Stelle noch einmal verbindlich.

geht, sind die Wirkungen der Stoffgruppe, die man seit Barger und Dale[2] Sympathicomimetica nennt, an die chemische Konfiguration der Phenyl-

Abb. 2. Blutdruck einer dekapitierten Katze. Körpergewicht 2000 g. Vor Beginn des Kurvenausschnittes insgesamt 7 mg/kg Benzedrin intravenös. Nach der ersten 5 mg-Dosis Blutdrucksenkung.

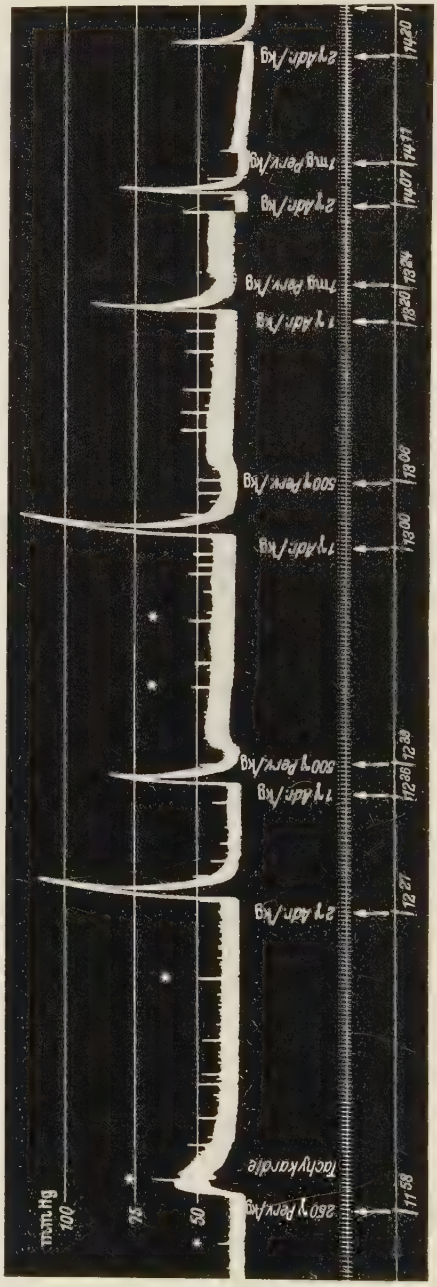


Abb. 3. Blutdruck einer dekapitierten Katze. Körpergewicht 3050 g. Vor Beginn des Kurvenausschnittes insgesamt 50 γ/kg Pervitin intravenös.

[2] J. Physiol. (Brit.) **41**, 19 (1910).

alkylamine gebunden. Wir haben uns daher unter den therapeutisch gebräuchlichen Kreislaufmitteln diejenigen ausgesucht, die chemische Beziehungen zu dem Veritol aufweisen. Es sind dies das

(−)-1-Phenyl-2-methylaminopropan-1-ol-hydrochlorid = l-Ephedrin,
(rac.)-1-Phenyl-2-aminopropan-sulfat = Benzedrin.
(+)-1-Phenyl-2-methylaminopropan-hydrochlorid = „Pervitin"*.
(rac.)-1-p-Oxyphenyl-2-methylaminopropan-sulfat = „Veritol"*.

Die Untersuchungen wurden wie in der vorhergehenden Mitteilung an dekapitierten Katzen durchgeführt. Dabei hat sich gezeigt, daß der Erwartung entsprechend auch das Ephedrin, Benzedrin und Pervitin bei ausreichender Dosierung die sympathischen Nervenendigungen blockierten, so daß Adrenalin keine wesentliche Blutdrucksteigerung mehr hervorrufen konnte. Die Abb. 1—3 geben Beispiele für den Ablauf der geschilderten Veränderungen. Bei all diesen Versuchen trat schließlich ein Zustand ein, wie man ihn als chronischen Kreislaufkollaps in der Chirurgie nach langdauernden Operationen, nach Verbrennungen u. dgl. mehr kennt.

Bei den von Rosenmund[3] durchgeführten Vergleichsversuchen mit einer Reihe von neu synthetisierten Ephedrinabkömmlingen hatte sich gezeigt, daß das Phänomen der Tachyphylaxie nicht allein dann auftritt, wenn die tachyphylaktisch reagierende Substanz selbst wiederholt zugeführt wird. Die ephedrinartig gebauten Substanzen können sich in dieser Hinsicht gegenseitig vertreten. Diese Tatsache hat zuerst Eichler[4] erwähnt. Er fand, daß nach Vorbehandlung mit Veritol bis zur völligen Unwirksamkeit die erste Injektion von 3 mg/kg Ephedrin zur Herzschädigung führte. Vorher hatten Pak und Read[5] gezeigt, daß l-Ephedrin, Ephetonin und r-Pseudoephedrin wechselseitig am Blutdruck Tachyphylaxie erzeugen. In der Arbeit von Kiese[6]: „Pharmakologische Untersuchungen an der glatten Muskulatur der Lunge (insbesondere mit einigen ephedrinartigen Substanzen)" ist in Abb. 11 auf S. 361 eine sehr deutliche Ephedrintachyphylaxie nach Vorbehandlung mit 6-Oxy-2-aminoindan-1-ol abgebildet. Modern und Thienes[7] zeigten am isolierten Kaninchendarm, daß Ephedrin nicht nur die Wirkung von Adrenalin verminderte, sondern auch die von Brenzkatechinmethyläthylamin und l-Norephedrin. Durch die Untersuchungen von Rosenmund aufmerksam geworden, haben wir die hier untersuchten ephedrinähnlichen Substanzen daraufhin geprüft. Es zeigte sich, daß Veritolvorbehandlung auch Wirkungsabschwächung von Benzedrin, Ephedrin, Ergotamin und Tonephin bewirkte. Ebenso bewirkte Ephedrin Tachyphylaxie für Veritol, Benzedrin, Ergotamin und Tonephin. Benzedrinvorbehandlung schwächte die Veritol-

[3] Inaug.-Diss. Kiel 1938. — [4] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937). — [5] Chin. J. Physiol. **2**, 435 (1928); Ber. Physiol. **48**, 838. — [6] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 361 (1935). — [7] Arch. internat. Pharmacodynam. **53**, 413 (1936).

wirkung bis zur Blutdrucksenkung ab. Pervitinvorbehandlung hemmte die Ergotamin- und Veritolwirkung und führte zur Blutdrucksenkung nach Ephedrininjektion.

Diese Versuche bringen neue Gesichtspunkte in die Diskussion über das Wesen der Tachyphylaxie hinein. Unsere Ergebnisse sprechen dafür, daß es sich bei der Tachyphylaxie ebenfalls um eine substantielle Blockade der Orte des Angriffes durch die Substanzen selbst handelt. Die schließlich auftretende Herzschädigung ist durch diese Vorstellung natürlich nicht erklärt. Die gegenseitige Vertretbarkeit der einzelnen ephedrinartig gebauten Substanzen ließ sich interessanterweise durch Substanzen erweitern, von denen bekannt ist, daß sie zur Tachyphylaxie führen, Ergotamin* und Vasopressin („Tonephin"*). Diese Tatsache spricht u. E. besonders deutlich für die Ungezwungenheit unserer in der vorigen Mitteilung geäußerten Vorstellung über das Zustandekommen der Sympathicolysis. Die Annahme, daß die für diese Wirkung verantwortlichen Gruppen auch bei den zuletzt genannten Substanzen von ephedrinähnlichem Bau seien, liegt nahe, ist indessen zur Zeit eine reine Hypothese.

Bei den Rosenmundschen Versuchen war weiterhin eine Sensibilisierung der Gefäße gegen den konstriktorischen Effekt des Adrenalins durch ephedrinartige Körper aufgefallen. Er fand nach γ-(p-Methoxyphenyl)-propanoläthylamin, γ-(p-Methoxyphenyl)-propylmethylamin und γ-(p-Oxyphenyl)-propylamin Wirkungssteigerungen für das Adrenalin zwischen 5 und 170% gegenüber dem Ausgangswert. Wir haben aus diesem Grunde bei unseren Versuchen auf die Sensibilisierung der Gefäße für die konstriktorische Adrenalinwirkung durch die geprüften Stoffe geachtet. Es zeigte sich, daß Veritol Wirkungssteigerungen für Adrenalin zwischen 150 und 750%, Ephedrin zwischen 300 und 400%, Benzedrin von etwa 400% und Pervitin zwischen 130 und 400% erzeugten.

Über die Adrenalinsensibilisierung durch Ephedrin finden sich in der Literatur schon eine Reihe von Befunden. Durch eine außergewöhnliche Adrenalinreaktion bei einer Addisonkranken, die aus therapeutischen Gründen regelmäßig Ephedrininjektionen erhielt, aufmerksam gemacht, fanden Csépai und Doleschall[8], daß beim Menschen die Empfindlichkeit der Gefäße gegen Adrenalin durch Ephedrin erhöht wurde. Die deutlichste Differenz zeigte eine Kranke mit Hyperthyreoidismus: 0,01 mg Adrenalin intravenös erzeugte vor Ephedringabe eine Blutdruckerhöhung von 40 mg, nachher eine solche von 95 mm Hg. Schaumann[9] zeigte kurze Zeit darauf, daß unwirksame Ephedrinkonzentrationen an den mit stark verdünnten Suprareninlösungen durchströmten Froschgefäßen eine stark langanhaltende Vasokonstriktion verursachten. Auch am urethanisierten Kaninchen und beim Hunde in Chloralhydrat-Morphinnarkose war die Adrenalinblutdruckreaktion nach 10 mg und nach 1,4 mg l-Ephe-

* Für die Überlassung der wertvollen Substanzen danken wir der Firma Sandoz und der I. G. Farbenindustrie A.-G. auch an dieser Stelle verbindlich.

[8] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **134**, 109 (1928). — [9] Ebenda **138**, 208 (1928).

drin/kg deutlich erhöht. Am isolierten Kaninchenuterus ließ sich die Sensibilisierung ebenfalls, wenn auch nicht so deutlich nachweisen. Launoy und Nicolle[10] bestätigten diese Beobachtungen. Am isolierten Kaninchenuterus kam es in den Versuchen von Reinitz[11] nach kleinen Ephedrindosen zu einer leichten Verstärkung der Adrenalinwirkung. Munch und Hartung[12] fanden am Hunde, daß von den Phenylpropanolaminen das p-Hydroxy-, das p-Methyl- und das Methylaminderivat (Ephedrin) in Dosen von 1–3 mg/kg die Adrenalinwirkung bis auf das Doppelte verstärkten. Koppanyi und Luckhardt[13] beschreiben eine adrenalinsensibilisierende Wirkung des Ephedrins, und zwar im Verlauf oder auf dem Höhepunkt seiner Blutdruckwirkung beim Hunde in Paraldehydmorphinnarkose. Pak und Tang[14] berichten über eine sensibilisierende Wirkung des Ephedrins auf die Adrenalinmydriasis: unterschwellige Mengen von Adrenalin wurden wirksam, wenn Ephedrin 30—60 Minuten vorher in den Conjunctivalsack eingeträufelt worden war.

Zur weiteren Klärung der Verhältnisse wurden Versuche am isolierten Organ durchgeführt. Wir haben diesmal den isolierten Kaninchenuterus gewählt, weil Adrenalin die glatte Muskulatur dieses Organs zur Kontraktion bringt. Die untersuchten Phenylalkylamine wirkten in Dosen von 10 mg pro 50 ccm auf den Uterus des Kaninchens ebenfalls erregend. In kleinen Dosen blieben sie wirkungslos. Wurden die Dosen ohne Wechsel der Ringer-Lösung vorsichtig gesteigert, dann traten keine typischen Kontraktionen auf. Von einer Dosis von 1 mg ab zeigten die Uteri vielmehr eine feinschlägige Spontantätigkeit. Auf diese Weise konnte die Wirkungsabschwächung des Adrenalins sehr deutlich gemacht werden. Ein Beispiel für diese Versuche gibt die Abb. 4. Die Wirkung war dabei am größten beim Pervitin, es folgte Benzedrin und in größerem Abstand das Ephedrin. Die Auffassung von Langecker[15], daß zur Anerkennung einer für Mutterkornalkaloide typischen Wirkung notwendig sei, daß die Adrenalinabschwächung noch nach dem Auswaschen der Alkaloidlösung nachweisbar ist, hat für unsere Fragestellung keine Bedeutung. Die Abstufung der Haftfestigkeit der einzelnen Sympathicomimetica ist in diesem Zusammenhang entscheidend. Ihrer Meinung: „Diese Wirkung nimmt nicht nur nicht noch während der Anwesenheit des Giftes ab, sondern sie bildet sich allmählich zu immer höheren Graden mit der Anwesenheit des Giftes aus und bleibt dann für längere Zeit bestehen, auch wenn das Gift entfernt ist, entsprechend eben der Tatsache, daß der Zustand oder die Empfindlichkeit, die Anspruchsfähigkeit des Organs verändert worden ist, eine Veränderung, welche als solche gar nichts mit der Anwesenheit eines Giftes zu tun hat", kann man heute nicht mehr zustimmen.

—

[10] C. r. Soc. Biol. **99**, 198 (1928). — [11] Ebenda **98**, 809 (1928); Skand. Arch. Physiol. **57**, 138 (1929). — [12] J. amer. pharmaceut. Assoc. **19**, 356 (1930); Ber. Physiol. **57**, 668. — [13] Arch. internat. Pharmacodynam. **40**, 344 (1931). — [14] Chin. J. Physiol. **7**, 229 (1933); Ber. Physiol. **81**, 542. — [15] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **118**, 49 (1926).

Die Befunde, die im vorangegangenen mitgeteilt worden sind, wurden in Verfolgung des Zieles, die sympathicolytische Wirkung gewisser chemi-

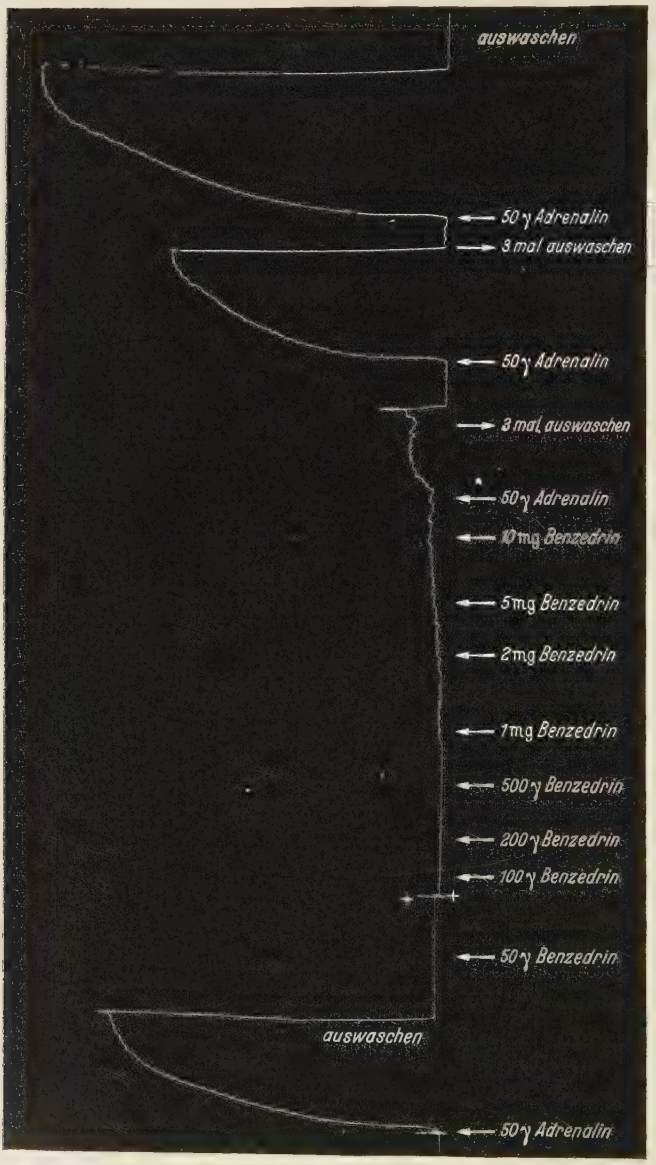


Abb. 4. Pervitinwirkung auf den isolierten Kaninchenuterus. Badinhalt 50 ccm. + = artifiziell.

scher Stoffe, insbesondere der Secalealkaloide aufzuklären, im Anschluß an frühere Untersuchungen mit Veritol[16] gewonnen. Für die adrenalinantagonistische Wirkung des Ephedrins liegen schon Angaben in der

[16] Verh. dtsch. pharmak. Ges. April 1938.

Literatur vor. Schon sehr frühzeitig hat Loewe[17] die Wirkung sehr verschieden aufgebauter Cycloäthylamine auf autonome Endorgane untersucht. Seine Versuche erstreckten sich auf 33 Substanzen. Darunter befanden sich unter anderen Abwandlungen des chemischen Prinzips des Tyramins, des Adrenalins, Mezkalins und Histamins. Er unterschied nach adrenoidem, pituitoidem, papaveroidem und ergotoidem Wirkungscharakter. Wichtig für unsere Feststellung ist, daß Loewe bei einer großen Reihe seiner Substanzen ergotoide Wirkungen aufgefunden hat. Curtis[18] beobachtete am Blutdruck von Hunden, daß große Dosen von Ephedrin den Effekt von Adrenalin aufhoben. Ebenfalls am Hunde arbeiteten Koppanyi und Luckhardt[19]. Sie beschreiben eine Lähmung der sympathischen Endapparate durch „massive" Dosen von Ephedrin. Die Autoren stellen dabei eine Ähnlichkeit dieser Ephedrinwirkung mit der Wirkung der reinen Secale-Bestandteile („action of the pure ergot principles") fest. Auch die hämodynamische Wirkung des Pituitrins war stark abgeschwächt. Die pro Körpergewicht verwendeten Ephedrinmengen sind aus der Mitteilung nicht ersichtlich. Reinitz[21] fand Abschwächung der Adrenalinwirkung durch große Dosen von Ephedrin am Kaninchenuterus und Kaninchendarm. In seinen Versuchen war daneben aber auch die erregende Wirkung von Bariumchlorid „wenn auch nicht allzu bedeutend" abgeschwächt. Finkleman[21] isolierte ein Stück Kaninchendünndarm mit einem möglichst langen Ende Mesenterium. Ephedrindosen von 5—10 mg pro 100 ccm hemmten die Adrenalinwirkung in mehr oder weniger hohem Grade und verminderten in demselben Ausmaß den Einfluß der Reizung der im Mesenterium verlaufenden Nerven. Hendricks und Thienes[22] berichten über ähnliche Versuche. Wenn in der Nährflüssigkeit Ephedrin in einer Konzentration von 1 : 10000 anwesend war, kam es nach Reizung der Mesenterialnerven zu keiner Hemmung der Darmbewegungen mehr. In den Versuchen von Epstein[23] am Darm von Rana fuscigula, Bufo vulgaris und Xenopus laevis war bei Gegenwart von Ephedrin (10^{-4}) die hemmende Adrenalinwirkung (10^{-7}) abgeschwächt oder aufgehoben. Modern und Thienes[24] untersuchten am isolierten Darm von Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen 40 Präparate von mehr oder minder adrenalinähnlichem Bau. Alle Substanzen mit Ausnahme von l-m-Sympatol, r-m-Sympatol, Corbasil und einem Phenyloktanolamin verminderten die nachfolgende Adrenalinwirkung in wechselndem Ausmaß. Die Verfasser heben hervor, daß die Verminderung der Adrenalinwirkung nicht abhängig ist von der Wirkung der Stoffe auf das isolierte Organ. Sie trat auf bei Substanzen, die selbst den Darm erregten oder hemmten und bei solchen, die keine deutliche Wirkung auf den Darm ausübten. Es ließ sich jedoch aus den Beobachtungen ableiten, daß Substanzen,

[17] Z. exper. Med. **56**, 271 (1927). — [18] J. Pharmacol. (Am.) **35**, 333 (1929). — [19] Arch. internat. Pharmacodynam. **40**, 344 (1931). — [20] Skand. Arch. Physiol. **57**, 138 (1929). — [21] J. Physiol. (Brit.) **70**, VI u. **145**, (1930). — [22] Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **28**, 993 (1931). — [23] Quart. J. exper. Physiol. **21**, 281 (1931); Ber. Physiol. **66**, 330. — [24] Arch. internat. Pharmacodynam. **53**, 413 (1936).

die selbst die Motorik des Darmes hemmten, anscheinend am wenigsten zu einer Verminderung der Adrenalinwirkung geeignet waren. Unter den untersuchten Substanzen befand sich auch das Benzedrin. Die Verfasser konnten den Nachweis erbringen, daß der von ihnen beschriebene Antagonismus mit der Wirkung des Bariumchlorids am Muskel selbst nichts zu tun hat. Einen Zusammenhang der beobachteten Phänomene mit der Wirkung des Ergotamins glauben sie nicht ablehnen zu können, er erscheint ihnen indessen unwahrscheinlich, weil sich ein Antagonismus zwischen Adrenalin und Ephedrin am Kreislauf nicht erhalten lasse.

Gaddum[25] hat neuerdings die Befunde von Blaschko[26] zu einer neuen Hypothese über die Ephedrinwirkung ausgebaut. Auch er nimmt an, daß Ephedrin die sympathischen Rezeptoren blockiert. Das Ephedrin soll gegen sich selbst antagonistisch wirken, indem es das Adrenalin, über dessen Freisetzung es normalerweise wirke, an der Wirkung hindert. Diese Hypothese klingt sehr bestechend. Sie stützt sich vornehmlich auf die Befunde von Schaumann[27], wonach Ephedrin am isolierten Froschgefäß schon in Konzentrationen von 10^{-7} wirkt, wenn es zu einer Ringer-Lösung mit dem gleichen Gehalt an Adrenalin zugesetzt wird. Burns[28] Resultate an mit Blut durchströmten Hundeextremitäten waren diesen ähnlich. Sie besagen aber zunächst auch nur, daß Ephedrin die Gefäße gegen Adrenalin sensibilisiert. Auch die Versuche von Poljakow-Stanewitsch[29] können so gedeutet werden. Er fand, daß Ephedrindosen, die am vollständig isolierten Kaninchenohr wirkungslos waren, deutliche Wirkung hervorriefen an Ohren, deren N. auricularis unbeschädigt war. Das gleiche gilt auch von den Versuchen von Gaddum und Kwiatkowski an dem im Zusammenhang mit dem Kopf gelassenen, von der Carotis communis aus durchströmten Kaninchenohr. Wir werden auf diese Angelegenheit später noch einmal zurückkommen.

Zusammenfassung.

1. Ephedrin und die ephedrinähnlich gebauten Stoffe Benzedrin und „Pervitin“ wirken bei oft wiederholter Zufuhr großer Dosen sympathicolytisch.

2. Sie erzeugen Tachyphylaxie. Es tritt aber auch eine wechselseitige Wirkungsabschwächung auf.

3. Die untersuchten Stoffe sensibilisieren die Gefäße der dekapitierten Katze gegen Adrenalin.

4. Auch am isolierten Kaninchenuterus läßt sich die Wirkungsabschwächung des Adrenalins durch die untersuchten Stoffe zeigen.

[25] Brit. med. J. **1938**, S. 716. — [26] Biochem. J. **31**, 2187 (1937); J. Physiol. **93**, 7P (1938). — [27] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **138**, 208 (1928). — [28] J. Pharmacol. (Am.) **46**, 75 (1932). — [29] Fiziol. Z. **20**, 57 (1936); Ber. Physiol. **96**, 314.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.

Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica.

III. Über die ephedrinähnliche Wirkung der Secalealkaloide Ergotamin und Ergometrin.

Von

G. Malorny und **G. Orzechowski.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juni 1940.)

Der Ausgangspunkt unserer Versuche mit sympathicomimetischen Substanzen war das Bestreben, die Auffassung zu stützen, daß die Wirkung des Ergotamins eine sympathicomimetische ist. Die Besonderheit der Wirkung dieser Substanz wurde in ihrer ausgesprochenen Affinität zu den sympathischen Rezeptoren gesehen. Dadurch kann bei geeigneter Dosierung ein Zustand erwartet werden, wo alle Rezeptoren mit dem festhaftenden Ergotamin besetzt sind, so daß dem Adrenalin keine Angriffsmöglichkeit rein räumlich mehr bleibt. Das Erscheinungsbild dieses Ereignisses wäre eine Sympathicuslähmung. Wir konnten dieser Auffassung eine Stütze durch den Nachweis geben, daß auch weniger affine Stoffe, die Ephedrinabkömmlinge, durch geeignete Zufuhr zu dem gleichen Endausgang der Symphaticuslähmung hingeleitet werden können. Bei den Untersuchungen fiel eine ganze Reihe von Beobachtungen an, die als charakteristische Ephedrinwirkungen und als an die spezielle chemische Konfiguration der Stoffe gebunden angesehen werden konnten.

Es erschien uns darum nicht uninteressant, die Fragestellung einmal umzukehren und nach Ephedrinwirkungen im Wirkungsbilde des Ergotamins zu suchen. Die Fragestellung wurde gleichzeitig auf das kleine Secalealkaloid, das Ergometrin*, ausgedehnt.

Die Untersuchungen wurden zunächst am Blutdruck der dekapitierten Katze durchgeführt. Die Technik, die wir anwandten, ist in den vorangegangenen Mitteilungen[1] bereits beschrieben worden. Dabei zeigte sich zunächst eine relativ starke Blutdruckwirksamkeit des Ergotamins, verglichen mit der des Adrenalins. Adrenalin ist nur etwa 50mal so wirksam wie das Ergotamin. Dieses Alkaloid entspricht demnach in seiner Blutdruckwirksamkeit etwa dem β-(p-Oxyphenyl)-isopropylmethylamin („Veritol"). Die Dauer der Blutdruckwirkung des Ergotamins ist gleichfalls

* Für die liebenswürdige Überlassung des kostbaren Versuchsmaterials danken wir der Firma Sandoz auch an dieser Stelle verbindlich.

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 237, 245 (1940).

der des Veritols sehr ähnlich. Die Reaktion auf 0,1 mg/kg Ergotamin dauerte etwa 40 Minuten, die von 0,25 mg/kg Veritol 60 Minuten lang an. Wie aus der Abb. 1 hervorgeht, trat bei wiederholter Zufuhr von Ergotamintartrat sehr rasch Tachyphylaxie auf. Die Abbildung ist einer Rußkurve entnommen, die die Blutdruckreaktionen einer in der bereits früher beschriebenen Weise dekapitierten Katze wiedergibt. Aus dieser Abbildung lassen sich gleichzeitig eine Reihe der in den vorangegangenen Mitteilungen geschilderten, für Ephedrin charakteristischen Wirkungen ablesen. Man sieht sehr deutlich die bekannte Abschwächung der Adrenalinwirkung. Die Adrenalinsensibilisierung war erwartungsgemäß nicht so deutlich. Sie betrug 125—200 %. Die Gründe dafür sind klar. Je schneller

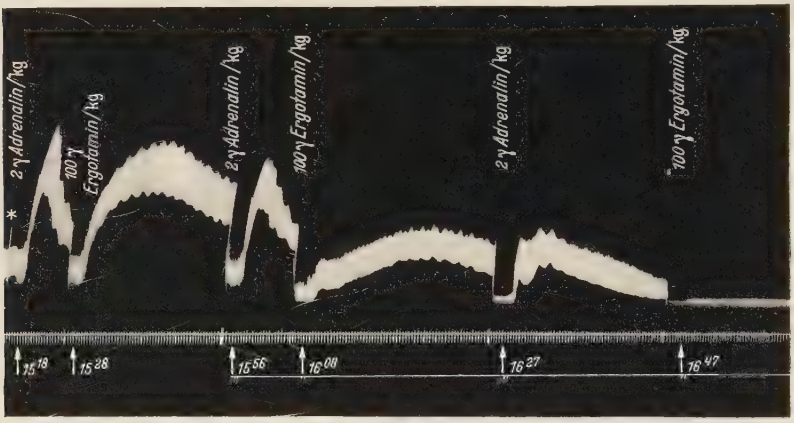


Abb. 1 Ergotamin. Blutdruck einer dekapitierten Katze. Körpergewicht 2050 g

ein Stoff die Adrenalinwirkung abschwächt, um so schwieriger ist es, die für die Sensibilisierung günstigste Dosierung und Dosenfolge herauszufinden. Es ist dies damit eine Frage des verfügbaren Tiermaterials, die für uns aus äußeren Gründen nicht günstig genug liegt, um große Opfer an Tieren für eine Teilfrage einzusetzen.

Auf die wechselseitige Wirkungsabschwächung mit den ephedrinartigen Körpern wurde schon in der vorigen Mitteilung kurz hingewiesen. In den dort geschilderten Versuchen mit „Veritol" und „Pervitin"* hatte die Vorbehandlung der dekapitierten Katzen mit den genannten Stoffen nicht nur Wirkungsabschwächung ihres eigenen Blutdruckeffektes, sondern auch des Effektes von Ergotamin ergeben. In den Ergotaminversuchen ist nunmehr eine Wirkungsabschwächung für Veritol und Benzedrin aufgetreten. In einem Falle ergab die Kombination von Ergotamin und Veritol eine Abschwächung der Adrenalinwirkung, die von den beiden anteiligen Substanzen allein nicht hervorgerufen worden wäre.

* Warenzeichen. Wir werden im folgenden der Kürze halber die geschützten Namen verwenden.

Die Neigung der wasserunlöslichen Secalealkaloide, im Laufe wiederholter Zufuhren eine Wirkungsabschwächung auszubilden, ist bekannt. Nach Barger und Dale[2] erzeugt wiederholte Ergotoxinzufuhr beim Kaninchen Gewöhnung. Ähnliche Befunde teilten Rothlin[3] für Ergotamin (Blutdrucktachyphylaxie), Rössler[4] für Sensibamin (Temperatur) mit. Stahnke[5] bestätigte die Gewöhnung in chronischen über 5 Monate ausgedehnten Versuchen. Matsuda[6] sah eine rasche Abnahme der Empfindlichkeit isolierter Gefäße im Läwen-Trendelenburg-Präparat gegen Ergotoxin. Curtis[7] beobachtete nach großen Dosen von Ergotamin auf Ephedrin Blutdrucksenkung (vergleiche dazu auch Schretzenmayr[8]). Raymond-Hamet[9] beschrieb einen „paradoxen" Effekt nach Ergotaminin: 1,25 mg/kg dieser Substanz sensibilisierten den Blutdruck eines Hundes gegen Adrenalin.

Abb. 2. Ergobasin. Blutdruck einer dekapitierten Katze. Körpergewicht 3300 g

Die Ergebnisse mit dem Ergometrin ähnelten denen, die mit Ergotamin im vorangegangenen beschrieben worden sind, sehr. Zu ihrer Durchführung wurde das „Ergobasin"-tartrat von Sandoz benutzt. Die Ergebnisse der Versuche werden am besten durch die Abb. 2 und 3 demonstriert. Sie stellen Ausschnitte aus Blutdruckkurven dar, die an dekapitierten Katzen ge-

[2] Biochem. J. **2**, 254 (1907). — [3] Arch. internat. Pharmacodynam. **27**, 459 (1923). — [4] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 115 (1935). — [5] Ebenda **128**, 132 (1928). — [6] Biochem. Z. **163**, 27 (1925). — [7] J. Pharmacol. (Am.) **34**, 37 (1928). — [8] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **152**, 210 (1930). — [9] C. r. Soc. Biol. **122**, 267 (1936).

wonnen waren. Abb. 2 zeigt das Wirkungsverhältnis zum Adrenalin, das etwa 1 : 200 beträgt. Man sieht ferner sehr deutlich den ephedrinähnlichen Ablauf der Blutdruckreaktion nach Zufuhr des Ergobasins. Schon die zweite Injektion zeigte eine Wirkungsabschwächung auf etwa die Hälfte. Die den ersten Ergobasininjektionen folgenden Adrenalinversuche sind Beispiele für eine schwache Adrenalinsensibilisierung durch einen ephedrinartig wirkenden Stoff. In Abb. 3 sieht man die Endzustände der Tachyphylaxie: die Injektionen relativ großer Ergobasinmengen führten zu einer Blutdrucksenkung. Auch die wechselseitige Wirkungsabschwächung für Ergotamin und Veritol durch Ergobasin konnte festgestellt werden.

Zu Versuchen an isolierten Organen wurden aus äußeren Gründen die durch Operation gewonnenen Uteri der dekapitierten Katzen verwendet.

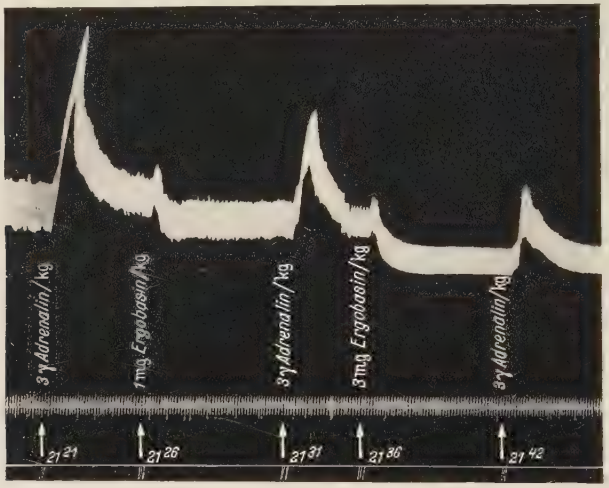


Abb. 3. Ergobasin. Blutdruck einer dekapitierten Katze. Körpergewicht 2500 g.

Da eigene Erfahrungen über die Wirkung der in der zweiten Mitteilung untersuchten ephedrinähnlichen Stoffe an diesem Organ noch fehlten, wurden auch diese Stoffe an dem Uterus der Katze geprüft. Die Organe zeigten sämtlich keine äußerlich erkennbaren Anzeichen einer bestehenden Schwangerschaft. Alle Stoffe (Ephedrin, Veritol, Benzedrin, Pervitin) versetzten die Muskulatur des isolierten Katzenuterus in den Zustand der Kontraktion. Dabei zeigte das Ephedrin die größte Wirksamkeit. Auch am isolierten Organ entwickelte sich bei der wiederholten Zufuhr der Stoffe eine zunehmende Wirkungsabschwächung. Besonders deutlich zeigte sich dies beim Veritol. Hier kam es dann auch rasch zur Wirkungsumkehr. Interessanterweise zeigte sich am isolierten Katzenuterus so wie

früher in den Untersuchungen von Fredrich[10] über die Adrenalinumkehr am Blutdruck eine starke Abhängigkeit der Reaktionsart vom Tonus der Muskulatur. Bei Uteri, die starke Spontantätigkeit von vornherein aufwiesen, wirkte nur Ephedrin im Sinne einer Erregung. Nach Zufuhr der drei anderen Präparate trat eine Tonusabnahme auf.

Wir verfolgten nunmehr die Frage, wie sich die einzelnen Substanzen auswirken, wenn der Tonus der Uterusmuskulatur künstlich gesteigert worden ist. Es zeigte sich, daß alle untersuchten Substanzen den gesteigerten Tonus der Uterusmuskulatur wieder herabsetzten. Ein Beispiel dafür bringt die Abb. 4 für das Ergotamin. Wir haben bei den Blutdruckversuchen

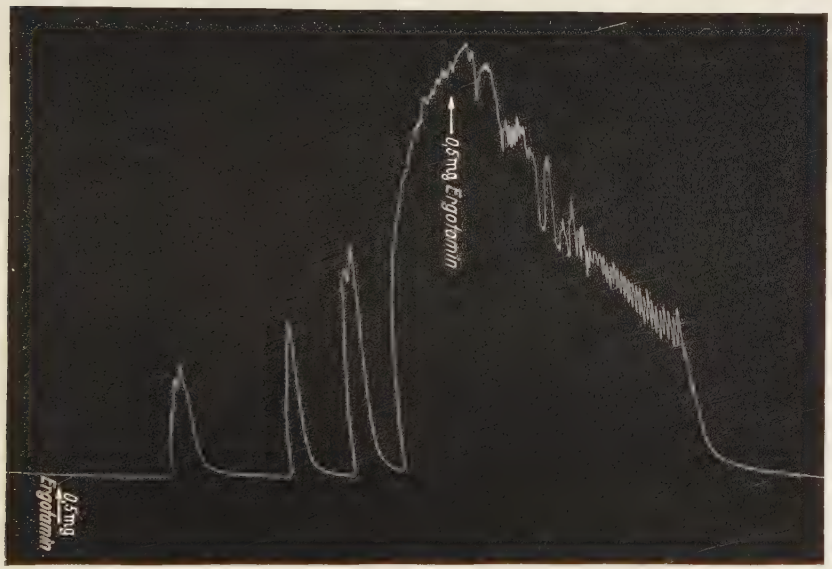


Abb. 4. Ergotamin. Isolierter Katzenuterus. Badinhalt 50 ccm.

zeigen können, daß sich bei der Entstehung der Tachyphylaxie die ephedrinähnlich aufgebauten Substanzen entsprechend ihrer Haftfähigkeit gegenseitig vertreten können. Auch am isolierten Katzenuterus ließ sich etwas Ähnliches beobachten: wenn durch Ergotamin ein Tonusanstieg bewirkt worden war, dann setzte Ephedrin noch in der Phase des Tonusanstieges zugefügt, den Tonus bis zum Ausgangszustand herab. Ähnliche Antagonismen wurden zwischen Ephedrin-Ergotamin, Ephedrin-Pervitin, Benzedrin-Ephedrin und Ephedrin-Veritol beobachtet. Es ist anzunehmen, daß sich die Beispiele prinzipiell beliebig durchpermutieren lassen. Schwierigkeiten können dabei nur die Dosen und die Haftfähigkeiten bei den verschiedenen Stoffen verursachen. Die letztgenannte Eigenschaft scheint eine besonders

[10] Inaug.-Diss. Berlin 1935.

wichtige Rolle zu spielen. Das äußert sich darin, daß es beim Ergotamin als Ausgangssubstanz leichter ist, das geschilderte Phänomen zu erzeugen, als mit Ergotamin als Folgesubstanz. Die große Haftfähigkeit des Ergotamins ist bekannt. Langecker[11] berichtet, daß zur Beseitigung der sympathicolytischen Wirkung kleiner Mutterkornalkaloidmengen beim isolierten Uterus etwa $^3/_4$ Stunden und mehrfaches wiederholtes Auswaschen nötig sind. Nach großen Alkaloiddosen dauert die Wiederherstellung der Adrenalinempfindlichkeit 3—4 Stunden.

Daß durch die Behandlung der isolierten Uteri mit den genannten Substanzen leicht schwer übersehbare Verhältnisse entstehen können, die wahrscheinlich auf den Grad der Beladung der Rezeptorsubstanz mit den chemischen Stoffen zurückzuführen ist, zeigt sich an den im Verlaufe solcher Versuche immer auftretenden Veränderungen der Auswaschwirkung. Im Anfang der Versuche reagiert das Präparat wie gewöhnlich auf Auswaschen mit einer Erschlaffung. Im Verlauf der Experimente mit den ephedrinartigen Substanzen wandelte sich die Auswaschreaktion in das Gegenteil um, es trat eine mächtige Tonuszunahme der Muskulatur ein. Diese Kontraktion verhielt sich einer durch die Einwirkung der von uns untersuchten Substanzen entstandenen sehr ähnlich. Wurde auf der Höhe der Erregung ein Stoff der Ephedrinreihe zugesetzt, dann erfolgte ein prompter Tonusabfall bis zur Norm. Die Dauer des Erregungszustandes war vom Grade der vorangegangenen Beladung der rezeptorischen Substanz abhängig. Ebenso verhielt es sich mit den zur Wiederherstellung des Ausgangszustandes notwendigen Auswaschwiederholungen. Zum Unterschiede gegenüber den früher bei starker Spontantätigkeit erhobenen Befunden wirkten hier auch Ephedrin und vor allem auch Ergotamin im Sinne einer Erschlaffung. Damit soll indessen nicht gesagt sein, daß es sich um prinzipiell andere Vorgänge handelt. Wir neigen vielmehr zu der Annahme, daß nur graduelle Unterschiede vorliegen. Über ähnliche Erscheinungen berichtete Langecker[12]. Sie beobachtete bei Versuchen am Kaninchenuterus mit Adrenalin an manchen Stücken beim Wegwaschen jedes Adrenalinzusatzes das „typische Auswaschphänomen" und führte die Erscheinung auf den Charakter des Adrenalins als Potentialgift zurück.

Die geschilderten Beobachtungen erinnerten uns an die von Fredrich[13] seinerzeit erhobenen Befunde. Bei dekapitierten Katzen ist der arterielle Blutdruck im allgemeinen sehr niedrig. Diese Präparate zeigen nach Ergotamin keine Adrenalinumkehr, sondern nur eine Abschwächung der pressorischen Adrenalinwirkung bis zu ihrem völligen Verschwinden, wenn man die Blutdruckwirkung des Ergotamins vorher völlig abklingen läßt. Daß dieser Umstand gegenüber der Blutdruckreaktion urethanisierter Katzen auf die verschiedene Höhe des mittleren arteriellen Druckes zurückgeführt werden kann, zeigte Fredrich an urethanisierten Katzen, die

[11] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **118**, 59 (1926). — [12] a. a. O. — [13] a. a. O.

nach Auslösung einer typischen Adrenalinumkehr rasch dekapitiert worden waren. Wenn die Operation mit geringem Blutverlust durchgeführt wurde, dann war auch nach der Dekapitierung die typische Adrenalinumkehr zu erhalten. Wir haben auch bei unseren Blutdruckversuchen Senkungen als letztes Stadium der Tachyphylaxie nur an Präparaten gesehen, bei denen der mittlere arterielle Druck ein gewisses Maß nicht unterschritt. Es erscheint daher nicht abwegig, bei den beiden für die Gefäße und den Uterus geschilderten Reaktionen der glatten Muskulatur eine analoge Abhängigkeit vom Tonuszustand zu vermuten.

Diese Beobachtungen erinnern aber auch in etwa an die von Streuli[14] mitgeteilten Adrenalinbefunde. Er brachte eine isolierte Kaninchenblase durch eine starke Adrenalindosis zur vollkommenen Erschlaffung. Durch Zusatz einer noch stärkeren Adrenalindosis trat eine schwache, aber deutliche Kontraktion auf. Durch unsere Befunde wird die Aufmerksamkeit erneut auf die von Cannon und Lyman[15] und von v. Uexküll[16] vertretene Auffassung gelenkt, nach der die Umkehr von Erregung in Hemmung und umgekehrt vom Zustande des Erfolgsorganes direkt abhängig ist.

Zusammenfassung.

1. In einzelnen typischen Wirkungen verhielten sich Ergotamin und Ergometrin recht ephedrinähnlich.

2. Am isolierten Katzenuterus konnte für das Ergotamin und eine Reihe der ephedrinähnlichen Substanzen gezeigt werden, daß die Phänome der Tachyphylaxie auch am isolierten Organ auftreten, und daß der Wirkungscharakter der Stoffe vom Zustand des Erfolgsorgans abhängig ist.

[14] Z. Biol. **66**, 167 (1916). — [15] Amer. J. Physiol. **31**, 376 (1912/13). — [16] Zit. n. Streuli, Z. Biol. **66**, 217 (1916).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.

Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica.

IV. Lokalanaesthetica als Sympathicomimetica.

Von

G. Malorny und **G. Orzechowski.**

(Eingegangen am 5. Juni 1940.)

In den beiden ersten Mitteilungen konnte gezeigt werden, daß Stoffe mit ephedrinartigem Aufbau eine Reihe von Reaktionen auslösen können, die anscheinend für diese Art von Substanzen typisch sind. Alle in diesen Mitteilungen untersuchten Stoffe sind Sympathicomimetica und als kreislaufwirksam in der Therapie bekannt. Dabei ist die Veränderung der chemischen Konstitution gegenüber dem primären Ausgangspunkt, dem Adrenalin, bei den letzten Gliedern doch schon recht groß. Nimmt man die in der Literatur niedergelegten Befunde hinzu, wobei nur auf die Arbeiten von Chen[1], Loewe[2], Modern und Thienes[3] als Beispiele hingewiesen sei, dann verstärkt sich der Eindruck noch mehr, daß es sich hier um ein anscheinend grundlegendes chemisches Bauprinzip handelt, und daß auch weitgehende chemische Abwandlungen gewisse Grundformen der Wirkung nicht beseitigen. Daher kam uns der Gedanke, daß auch andere Substanzen, die einen Benzolring und in der Seitenkette ein Stickstoffatom aufweisen, in mancher Hinsicht Ähnlichkeiten zu den für die Ephedrinabkömmlinge typischen Wirkungen aufweisen könnten.

Diesen Anforderungen entspricht chemisch das „Novocain"*. Es hat keine hervorstechende sympathicomimetische Eigenschaften. Dagegen ist verschiedentlich auf die Adrenalinsensibilisierung durch Novocain hingewiesen worden. Biberfeld[4] beschrieb einen cocainähnlichen Synergismus zwischen Novocain und Adrenalin an der Froschpupille. Hatcher und Eggleston[5] fanden eine synergistische Wirkung von Novocain und Adrenalin am Blutdruck des Hundes. 0,01 mg/kg Adrenalin erzeugte bei einem Hunde in Morphinanästhesie einen Blutdruckanstieg von 100 auf etwa 160 mm, bei gleichzeitiger Gabe von 5 mg/kg Novocain einen solchen von etwa 100 auf 240 mm Hg. Sternberg[6] beobachtete schon 5 Minuten nach Pinselung der Nase, der Mundhöhle und des Rachens von Kaninchen

[1] J. Pharmacol. **36**, 363, (1929) — [2] Z. exper. Med. **56**, 271 (1927). — [3] Arch. internat. Pharmacodyn. **53**, 413 (1936). [4] Med. Klin. **1905**, S. 1218. — [5] J. Pharmacol. (Am.) **8**, 385 (1917). — [6] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **100**, 112 (1923).

* Warenzeichen. Wir haben im folgenden der Kürze halber die geschützten Namen verwendet.

mit Cocain eine Steigerung der Adrenalinwirkung hinsichtlich Intensität und Dauer. Pinselte er die genannten Stellen mit Alypin, dann trat nach intravenöser Zufuhr von Adrenalin oder Adrenalon eine ebensolche Steigerung der Wirkung dieser Substanzen auf wie nach Pinselung mit Cocain. Intravenöse Injektion von Novocain und Adrenalin sowie von Novocain und Adrenalon ergab eine deutliche und fast augenblickliche Steigerung der Adrenalinwirkung an Dauer und Intensität. Wiemann[7] fand beim Hunde, daß die Adrenalinwirkung durch Novocain verstärkt wird. Eine Sensibilisierung für Adrenalin durch Novocain läßt sich aus seinem Versuch schließen, wo nach vorausgegangener intravenöser Adrenalininjektion eine folgende intravenöse Novocainzufuhr blutdrucksteigernd wirkte, wenn sie in einem Zeitpunkt erfolgte, in dem die Adrenalinwirkung auf den Blutdruck noch vorhanden war. Bacq und Lefèbre[8] unterscheiden bei den Lokalanaestheticis hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Sympathicomimetica drei Klassen: Das Cocain und Stovain sensibilisieren die Nickhaut der Katze gegen Adrenalin, Epinin, Arterenol, Adrenalon; sie desensibilisieren sie gegen Tyramin und Ephedrin. Tutocain, Scurocain (Novocain), Pantocain, Alypin, Orthoform, Nirvanin, Panthesin sensibilisieren gegen Adrenalin und Tyramin, sie desensibilisieren nicht oder kaum gegen Ephedrin. Percain und Butyn vermögen weder zu sensibilisieren noch zu desensibilisieren.

Unsere Versuche wurden an der dekapitierten Katze durchgeführt. Die Technik entsprach der früher beschriebenen. Bei den mit Novocain durchgeführten Experimenten zeigte sich, daß die Blutdruckwirksamkeit des Novocains nur außerordentlich gering ist. Auf Dosen von 3 mg/kg trat eine Verminderung der Amplituden durch Erhöhung der Kurvenfußpunkte auf. Die Blutdrucksteigerung war gerade eben nachweisbar. Bei Steigerung der zugeführten Menge trat sehr rasch eine kurz dauernde Blutdrucksenkung auf, die im Anfang von einer Blutdrucksteigerung um 20—30 mm Hg gefolgt war. Bei weiterer Steigerung der Einzeldosen auf 20 mg/kg und nach öfter wiederholter Zufuhr trat eine reine Blutdrucksenkung um etwa 10 mm Hg auf. Auf die ersten Novocaindosen folgte nach Abklingen der Novocainwirkung eine Adrenalinsensibilisierung, die in unseren Versuchen Beträge von 400—500% erreichte und 4—5 Stunden lang anhielt. Mit zunehmender Novocaintachyphylaxie wurden auch die Adrenalinreaktionen immer schwächer. Wir haben aus äußeren Gründen davon abgesehen, die Versuche bis zum völligen Verschwinden der Adrenalinwirkung fortzusetzen, und begnügten uns mit der Erreichung einer Abschwächung auf $^1/_4$ oder $^1/_5$ der Ausgangswerte. Parallel zu der Wirkungsabschwächung des Adrenalins verlief die Abschwächung der Wirkung anderer sympathicomimetischer Substanzen wie „Veritol"*, „Tonephin"*,

[7] Dtsch. Z. Chir. **179**, 388 (1923). — [8] Arch. internat. Pharmacodyn. **49**, 363 (1935).

* Warenzeichen.

Ergotamin und Ergometrin. Zum Unterschied von Adrenalin wurde auch hier wie schon früher die Wirkung der anderen Sympathicomimetica nach kürzerer Zeit und kleinerer Gesamtdosierung deutlich abgeschwächt. Während man bei den Ephedrinabkömmlingen eine gegenseitige Vertretbarkeit entsprechend ihrer Wirksamkeit findet, gilt dies für das Adrenalin nicht. Wenn auf 100 γ Veritol z. B. nur noch eine ganz geringe Blutdrucksteigerung auftritt, wirken 2 γ Adrenalin nicht entsprechend, sondern wesentlich stärker. Wenn auf ephedrinartige Stoffe am Ende der Zufuhr der Blutdruck nur noch mit einer Senkung reagiert, bewirkt Adrenalin immer noch eine deutliche Blutdrucksteigerung.

Ähnlich waren die Versuchsergebnisse mit dem „Pantocain"*. Diese Substanz zeigte sich an den Blutgefäßen der dekapitierten Katze wirksamer als das Novocain. Es erzeugte bereits in Dosen von 50 γ/kg einen deutlichen Anstieg des Blutdruckes. Tachyphylaxie trat sehr rasch auf. Die Adrenalinsensibilisierung betrug etwa 100—200% und dauerte ebenfalls mehrere Stunden an. Die Wirkung von Veritol wurde sehr rasch abgeschwächt. Es gelang schließlich auch stets, die Adrenalinwirkung bis auf $^1/_4$ oder $^1/_5$ des Ausgangsbetrages abzuschwächen.

Die chemische Konstitution von Novocain und Pantocain zeigt noch recht verwandte Züge mit der der Ephedrinabkömmlinge. Beim Cocain ist die Situation schon anders. Wenn man indessen die Benzoesäure als das hauptsächliche Strukturelement betrachtet, würde die Frage lauten, ob das Stickstoffatom eines Ringes in der Seitenkette noch ähnliche Funktionen ausüben kann wie das Amin der bisher betrachteten geraden Kohlenstoffketten. Für die Bejahung dieser Frage spricht, daß das Cocain deutliche Wirkungen an sympathischen Nervenendigungen ausübt. Vor allem ähnelt es in seiner Wirkung an einigen isolierten Organen dem Adrenalin. Miller[9] konnte in seinen Versuchen an der Kaninchenіris weder in vivo noch in vitro Anhaltspunkte für eine Erschlaffung des Sphincter pupillae unter Cocaineinwirkung erhalten. Er kommt zu dem Schluß, daß die bekannte Cocainmydriasis der Effekt einer Sympathicuserregung ist. In den Versuchen, die er zur Stützung seiner Auffassung an anderen isolierten Organen durchführte, ergaben sich weitere Anhaltspunkte für einen sympathicuserregenden Mechanismus. Der isolierte schwangere und nichtschwangere Uterus des Kaninchens erfuhr durch Cocain (10^{-4}) eine Verstärkung des Tonus und der Kontraktionen ähnlich wie durch Adrenalin (10^{-6}). Am Uterus der nichtschwangeren Katze erzeugte Cocain eine Hemmung der Kontraktionen und nach vorübergehendem Anstieg einen lang dauernden Tonusabfall. Isolierte Stücke von Kaninchenduodenum zeigten unter dem Einfluß von Cocain einen Abfall des Tonus und Hemmung der Kontraktionen.

* Warenzeichen.

[9] J. Pharmacol. (Am.) **28**, 219 (1926).

Dabei ist allerdings zu beachten, daß Cocain die sympathisch innervierten Organe gegen die Wirkung des Adrenalins sensibilisiert. In der modernen Auffassung von der humoralen Nervenwirkung gehen manche Forscher so weit, die Wirkung gewisser chemischer Stoffe nur als Beeinflussung der Wirkung des von ihnen freigesetzten Adrenalins zu sehen. So meinen Gaddum und Kwiatkowski [10], daß die Wirkung des Ephedrins in dieser Weise verläuft. Am Gesamttier kann man diesen Auffassungen folgen. Es besteht indessen zur Zeit keine Veranlassung, sie en bloc auf die isolierten Organe zu übertragen und eine Ausschüttung von Adrenalin aus sympathischen Ganglien oder gar Nervenendigungen veranlaßt von einem Pharmakon anzunehmen. Dagegen spricht vor allem, daß die ephedrinartig gebauten Stoffe an verschiedenen Organen eine grundsätzlich andere Wirkung haben als Adrenalin oder ein Sympathicusreiz. Es besteht also zunächst keine Veranlassung, die adrenalinähnlichen Wirkungen an isolierten Organen nicht als sympathicomimetisch aufzufassen.

Wir hatten in den früheren Mitteilungen bereits beobachtet, daß die Adrenalinsensibilisierung zu den typischen Wirkungen der Sympathicomimetica gehört. Die Steigerung der Adrenalinempfindlichkeit ist seit langem bekannt. Fröhlich und Loewi [11] zeigten, daß an sich ganz unwirksame Gaben von Cocain in hohem Maße die Adrenalinwirkung an Blutgefäßen, Harnblase und Auge nach Intensität und Dauer steigern. Tatum [12] fand, daß Cocain bei intravenöser Applikation die Blutdrucksteigerung nach elektrischer Reizung des peripheren Endes des Nervus splanchnicus beim Hunde und beim Kaninchen vergrößert. Vorhergegangene Nebennierenexstirpation änderte an diesen Ergebnissen nichts. Rosenblueth [13] konnte durch Cocain die hemmende Adrenalinwirkung auf den Magen der Katze verstärken, aber nur am nichtschwangeren Uterus Wirkungssteigerung des Adrenalins erzielen.

Die Blutdruckwirksamkeit des Cocains war in unseren an der dekapitierten Katze durchgeführten Versuchen nicht sehr groß. Sie betrug im Vergleich zu Adrenalin etwa 1 : 1000. Nach wenigen Injektionen trat sehr deutliche Wirkungsabschwächung auf. Dieses tachyphylaktische Verhalten äußerte sich, wie früher bei den Ephedrinderivaten ebenfalls beobachtet werden konnte, nicht allein gegen nachfolgende Gaben von Cocain, sondern auch gegenüber Veritol und Ergometrin. Die Gefäße der dekapitierten Katze wurden sehr deutlich gegen Adrenalin sensibilisiert. Die Wirkungssteigerung gegenüber dem Zustand vor der Zufuhr von Cocain betrug etwa 300%. Durch weitere Zufuhr von Cocain wurde die Adrenalinwirkung dann aber sehr deutlich abgeschwächt.

Auch für die adrenalinabschwächende Wirkung des Cocains liegen in der Literatur schon einige Belege vor. Läwen [14] fand bei der Durch-

[10] J. Physiol. (Brit.) **94**, 87 (1938/39). — [11] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **62**, 159 (1910). — [12] J. Pharmacol. (Am.) **16**, 109 (1920). — [13] Amer. J. Physiol. **98**, 186 (1931). — [14] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **51**, 415 (1904).

strömung der unteren Extremitäten des Frosches, daß die Suprareninwirkung abgeschwächt wurde, wenn das Präparat erst mit Cocain und dann mit Suprarenin durchströmt wurde. Hendricks und Thienes[15] führten ihre Versuche an Darm-Nn.-mesenterici-Präparaten von Kaninchen und Hunden nach der Methode von Thomas durch. Sie reizten die Nerven faradisch und beobachteten dabei eine Tonusabnahme und Hemmung der Bewegungen, die die Reizung einige Sekunden überdauerten. Adrenalin wirkte ganz ähnlich. Durch Cocain 1 : 75000 wurde dieser Hemmungseffekt stark vermindert oder aufgehoben.

Die Frage des Angriffspunktes der Lokalanaesthetica am vegetativen Nervensystem ist schwer zu beantworten. Die Befunde der Literatur widersprechen sich hier weitestgehend. Wir haben weiter oben schon eine Reihe von Arbeiten zitiert, die für einen Angriff am vegetativen Nervensystem sprechen. Wenn man die Wirkung der Lokalanaesthetica auf die Gefäße betrachtet, so findet man hier alle nur möglichen Angaben[16]. Auch an anderen glatten Muskeln sind verschiedenartige Resultate erhalten worden. Anscheinend besteht Übereinstimmung darin, daß Cocain auf den isolierten Darm von Ratte, Kaninchen, Katze, Hund in kleinen Dosen erregend, in größeren Dosen lähmend wirkt. Stovain, β-Eucain und Allocain S zeigten nur lähmende Effekte. In Experimenten mit Gegenschaltung von Cholin, Pilocarpin, Arecolin u. ä. und auf der anderen Seite von $BaCl_2$ gegen Cocain finden eine Reihe von Autoren einen Angriff am autonomen Nervenendapparat, andere eine muskuläre Wirkung. Ebenso liegt die Situation beim Vergleich der Wirkungen von Adrenalin und Cocain und bei der Betrachtung ihrer gegenseitigen Beeinflussung. Die Wirkung des Cocains auf die autonomen Nerven des Herzens kann nicht als geklärt bezeichnet werden. Die Blutgerinnung wird durch die Lokalanaesthetica in demselben Sinne beeinflußt wie durch Adrenalin. Sie vermehren in kleinen Dosen den Thrombin- und Fibrinogengehalt des Blutes und verlängern in höheren Dosen die Gerinnungszeit. Der Blutzuckerspiegel wird durch die Lokalanaesthetica erhöht oder die Adrenalinhyperglykämie durch unterschwellige Dosen gesteigert[16].

Unsere eigenen Ergebnisse sind am Kreislauf erhoben worden. Hervorzuheben ist, daß in diesen Versuchen die untersuchten Lokalanaesthetica im Anfang blutdrucksteigernd wirkten. Diese Wirkung war allerdings sehr schwach. Deshalb war auch nach wenigen Wiederholungen der Dosis schon eine deutliche Tachyphylaxie aufgetreten, die dann auch sehr bald zur Blutdrucksenkung führte. Die Tachyphylaxie war, wie es uns schon von der Untersuchung der Ephedrinabkömmlinge her geläufig war, auch hier nicht allein gegen die tachyphylaktogene Substanz, sondern auch gegen einige ähnlich gebaute chemische Stoffe gerichtet. Die Unterschiede

[15] Proc. Soc. exper. Biol. (Am.) **28**, 993 (1931); Ber. Physiol. **64**, 403. —
[16] Vgl. Laubender, Heffters Handb., Ergänzungswerk **8** (1939).

in der Beeinflussung der Adrenalin- und Ephedrinwirkung durch die Lokalanaesthetica, über die eine ganze Literatur entstanden ist, erscheinen unter den von uns entwickelten Gesichtspunkten weniger kompliziert. In der ersten Mitteilung konnten wir zeigen, daß bei konsequenter Zufuhr von großen Dosen von Veritol die Kreislaufreaktion von Sympatol sehr viel rascher völlig unterdrückt werden kann als die des Adrenalins. Nach unserer schon früher dargestellten Auffassung kann man diese Unterschiede aus der Adsorption der Stoffe in spezifische Grenzflächen verstehen. Die Wirkung des Adrenalins wird durch so geringe Mengen dieses Stoffes hervorgerufen, daß sie größenordnungsmäßig nur mit den bei Grenzflächenphänomenen in der Chemie noch wirksamen verglichen werden können. Gerade für die winzigen Adrenalinmengen werden in dem steil ansteigenden Schenkel der Adsorptionsisotherme günstigste Adsorptionsbedingungen vorhanden sein. Es werden wahrscheinlich Möglichkeiten der adsorptiven Verdrängung der weniger affinen zur Blockierung angewandten Stoffe bestehen. Damit ist auch das Problem der verschiedenartigen Beeinflussung der Wirkung von Adrenalin, Tyramin oder Ephedrin durch Cocain nach unserer Auffassung ein quantitatives.

Unsere Ergebnisse greifen somit das Problem von einem anderen Gesichtspunkt aus an. Die Resultate unserer Versuche bringen weniger den Nachweis, daß die Lokalanaesthetica Sympathicomimetica sind. Dazu sind die untersuchten Objekte noch nicht zahlreich genug. Aus den im Vorangegangenen mitgeteilten Befunden kann man aber folgern, daß bei den chemisch den Sympathicomimeticis verwandten Lokalanaestheticis ein Angriffspunkt in den spezifischen Strukturen der sympathischen Endapparate liegt. Die Eigenwirkung ist entsprechend dem chemischen Abstand von den Phenylalkanolaminen sehr gering. Die großen Dosen, die zur Erzielung einer Wirkung notwendig sind, können auch noch an anderen Angriffspunkten Wirkungen auslösen, z. B. an der Muskulatur selbst. Die Wirkung am Organ selbst braucht prinzipiell nicht in der gleichen Richtung zu liegen. Die Chance, daß die Richtung der Wirkung die gleiche ist, teilt sich in die Wahrscheinlichkeit mit der Chance, daß sie entgegengesetzt ist, und der, daß gar keine Wirkung auftritt.

Zusammenfassung.

1. Die Lokalanaesthetica Novocain, Pantocain und Cocain verursachten Veränderungen der Blutdruckreaktion der dekapitierten Katze, die an die durch ephedrinartig aufgebaute Sympathicomimetica ausgelösten erinnerten.

2. Die Zusammenhänge mit den Angaben der Literatur werden diskutiert.

Aus dem wissenschaftlichen Laboratorium der Degewop G. m. b. H., Berlin.

Über die Auswertung von Schilddrüsenpräparaten.

Von

E. Dressler und **K. Hölling.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 27. Juli 1940.)

Bekanntlich ist die Wirksamkeit von Schilddrüsenpräparaten keineswegs gleichmäßig, selbst wenn man stets die Schilddrüsen der gleichen Tierart verwendet und sie nach demselben Arbeitsgang aufarbeitet. Da aber nur die Kenntnis der Wirksamkeit eine exakte Dosierung ermöglicht, war man schon seit langem bestrebt, Methoden zur Wertbestimmung von Schilddrüsenpräparaten auszuarbeiten, um dem Kliniker gleichmäßig wirksame Präparate in die Hand geben zu können. Die relativ einfache und zunächst naheliegende Bestimmung des Jodgehalts wird zu diesem Zweck auch heute noch vielfach ausgeübt, obwohl wir nunmehr wissen, daß die Schilddrüse neben wirksamem Thyroxinjod auch unwirksames, oder sogar antagonistisch wirksames Dijodtyrosinjod und, allerdings zu vernachlässigende, Mengen anorganisches Jod enthält. Die Jodbestimmung ist daher für die Beurteilung des Wertes von Schilddrüsenpräparaten von recht problematischem Wert. Man hat neuerdings Versuche unternommen, Thyroxinjod und Nichtthyroxinjod getrennt chemisch zu erfassen. Abgesehen davon, daß weder hinsichtlich der einzuschlagenden Arbeitsweise, noch hinsichtlich der Resultate bei diesem Bestreben bisher Einigkeit besteht, hat diese Methode anscheinend praktisch keine weitere Anwendung zur Wertbestimmung von Schilddrüsenpräparaten gefunden.

Im allgemeinen wurde den biologischen Wertbestimmungsmethoden bei den Schilddrüsenstoffen der Vorzug gegeben. Es ist hier nicht der Ort, auf die zahlreichen für diesen Zweck vorgeschlagenen biologischen Testierungsmethoden näher einzugehen. Es sei diesbezüglich nur auf die umfangreiche und vollständige Zusammenstellung bei Bomskov (1) verwiesen. Als die relativ einfachsten möchten wir nun jene, die auf der Abnahme des Körpergewichts verschiedener Versuchstiere beruhen, hervorheben, das besonders deshalb, weil diese eben wegen der Leichtigkeit der Durchführung vorwiegend tatsächlich auch praktisch angewendet werden. Vielfach wird auch die Verwendung der Acetonitrilresistenzsteigerung an der Maus, die Metamorphosebeschleunigung an verschiedenen Kaltblüterlarven und schließlich die Bestimmung des Grundumsatzes vorgeschlagen. Obwohl gerade die letzteren Methoden besondere Beachtung verdienen, weil sie ja jene Elementarwirkung der Schilddrüsenstoffe,

auf die es dem Kliniker bei der Verordnung ankommt, nämlich die Grundumsatzsteigerung, als Auswertungskriterium benutzen, haben sie doch in der Praxis sich nicht recht eingebürgert. Die meisten Untersucher, wie Haffner (2), Oberdisse (6) und Mörch (5) beschränken sich allerdings auf die methodisch leichtere Bestimmung der Kohlensäureproduktion. Nur Jorpes und Mitarbeiter (3), die sich einer Kroghschen Stoffwechselapparatur bedienen, benutzen die Steigerung des Sauerstoffverbrauchs von Meerschweinchen zur Bewertung von Schilddrüsenpräparaten. Gegen die ausschließliche Verwendung von Kohlensäurebestimmungen zur Messung des Grundumsatzes sind stets Bedenken geltend gemacht worden, wie die Möglichkeit von Retention von Kohlensäure oder des Erscheinens überschüssiger Kohlensäure bei allfälliger Acidose der Versuchstiere. Mag selbst diesen Einwänden bei gleichmäßiger Haltung und Ernährung keine besondere Bedeutung zukommen, so verdient doch die weiter unten aufgezeigte Fehlermöglichkeit besondere Beachtung. Infolge des Absinkens des respiratorischen Quotienten wird nämlich nach höheren Schilddrüsengaben die Proportionalität zwischen der Steigerung der Kohlensäureproduktion und der Schilddrüsendosis empfindlich gestört. Wir haben es daher unternommen, eine Auswertungsmethode für Schilddrüsenpräparate auszuarbeiten, die sich auf der Steigerung des Sauerstoffverbrauchs der Versuchstiere aufbaut.

Die besonderen Vorteile dieser Methode für den Kliniker sind:

1. die Tatsache, daß die Grundumsatzsteigerung, die für die klinische Bewertung eines Schilddrüsenpräparats ausschlaggebend ist, gemessen wird;

2. die große Genauigkeit unseres Testes.

Versuchsanordnung.

Die Versuche wurden in der von Junkmann (4) angegebenen Stoffwechselapparatur für Kleintiere in der dort beschriebenen Weise vorgenommen*. Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen von 300–500 g Körpergewicht. Die Tiere wurden mit 50 g Hafer pro Tag und außerdem mit Heu und Grünfutter ad libitum ernährt. Zum Gaswechselversuch wurden die Meerschweinchen etwa von 18 Uhr des Tages vor dem Versuch an bei Nahrungs- und Flüssigkeitskarenz gehalten. Die Grundumsatzbestimmungen wurden dann zwischen 8 und 14 Uhr am Versuchstag vorgenommen. Die Versuchstemperatur war 30°. Es wurden regelmäßig 3 Ablesungen gemacht, die gute Übereinstimmung zeigten. Im Abstand von je 3 Tagen wurden insgesamt 3 Leerversuche zur Bestimmung des Grundumsatzes der Versuchstiere gemacht. Die Stoffwechselwerte wurden in ccm O_2 bzw. CO_2 je 100 g Meerschweinchen und Stunde ausgedrückt.

* Herrn Dr. K. Junkmann, Berlin, sind wir für Beratung hinsichtlich Methodik der Versuchsanordnung zu großem Dank verpflichtet.

Ein Beispiel des Ausfalls eines solchen Leerversuchs an 10 Tieren, von denen zwei 4mal, die übrigen acht 3mal gestoffwechselt wurden, ist in der Tabelle 1 zusammengestellt:

Tabelle 1.

O_2-Verbrauch je 100 g und Stunde Versuchstag				CO_2-Bildung je 100 g und Stunde Versuchstag			
1	2	3	4	1	2	3	4
69,7	64,4	63,6	70,6	52,9	53,9	51,8	58,0
71,8	78,3	73,7	72,8	61,7	56,1	54,8	53,2
65,6	52,6	60,7		50,1	44,6	52,4	
72,3	62,5	63,1		50,2	56,4	55,1	
62,0	60,7	63,5		49,1	53,8	50,9	
65,3	75,6	70,3		51,3	63,6	55,9	
64,7	61,5	65,5		61,4	59,2	57,3	
73,0	70,0	69,8		58,9	54,3	58,0	
69,0	73,6	73,6		56,0	57,5	58,4	
69,4	70,1	63,5		56,0	62,4	52,3	
Mittel: 68,3	66,9	66,7		54,8	56,2	54,7	

Aus dieser Tabelle geht auch ein Überblick über die Streuung der Versuchsresultate einerseits von Tier zu Tier, andererseits am selben Tier von Versuchstag zu Versuchstag hervor. Aus allen 3 Versuchstagen läßt sich ein mittlerer Sauerstoffverbrauch je 100 g und Stunde von 67,6 ccm berechnen. Die mittlere CO_2-Produktion betrug 55,2 ccm pro 100 g und Stunde. Der respiratorische Quotient war 0,82. Für den Sauerstoffverbrauchsmittelwert läßt sich ein mittlerer Fehler von 8,45%, für die Kohlensäureproduktion ein solcher von 5,84% berechnen.

Für eine Gruppe von 7 Versuchstieren haben wir in der gleichen Weise den Mittelwert für O_2-Verbrauch und CO_2-Produktion berechnet und für O_2-Verbrauch 67,6 ccm und für CO_2-Produktion 57,2 ccm gefunden. Der respiratorische Quotient war hier 0,85. Aus diesen Zahlen geht die gute Übereinstimmung der Mittelwerte aus relativ kleinen Kollektiven hervor.

Standardkurve.

Für die Auswertung von Schilddrüsenpräparaten galt es zunächst, eine Eichkurve mit einem Schilddrüsenpulver aufzunehmen, das für die weiteren Versuche als Vergleichsstandard dienen sollte. Wir benutzten dazu ein Trockenpulver aus Schweineschilddrüsen, wie es dem Thyrowop zugrunde liegt. Das Präparat wurde den Meerschweinchen 4 Tage lang täglich einmal morgens 8 Uhr in 0,5—1,0 ccm Wasser aufgeschwemmt mit der Pipette peroral verabreicht. Die Tiere nahmen die Substanz gut und vollständig auf. 100 Stunden nach der ersten Fütterung wurde dann eine neuerliche Grundumsatzbestimmung in der oben skizzierten Weise vorgenommen und die prozentische Steigerung gegenüber dem Mittelwert

aus den Leerwerten jedes einzelnen Tieres berechnet. Gruppen von 7—10 Tieren wurden für jede Dosis Schilddrüsenpulver eingesetzt und für jede Dosis der Mittelwert der prozentischen Stoffwechselsteigerungen berechnet. Für unser Standardpulver ergab sich so das folgende Bild:

Tabelle 2. % Stoffwechselsteigerung.

mg Standardschilddrüsenpulver pro 100 g und Tag per os									
0,5		1,0		2,0		4,0		8,0	
O_2	CO_2	O_2	CO_2	O_2	CO_2	O_2	CO_2	O_2	CO_2
13,9	28,3	31,8	39,7	33,8	28,4	44,6	33,3	36,8	44,4
22,5	23,8	21,0	13,0	49,9	45,9	40,2	45,7	60,0	42,9
31,5	41,7	23,2	33,9	45,8	35,9	56,8	47,2	44,8	28,1
35,6	21,8	26,2	26,2	34,9	24,2	61,4	36,7	68,2	43,0
15,5	26,4	19,2	28,1	45,9	47,7	62,7	48,5	60,4	34,8
37,3	29,3	18,1	19,7	46,2	35,3	101,2	83,2	66,8	35,4
23,5	15,9	18,4	14,4	32,1	37,8	39,8	30,3	49,2	32,5
6,2	14,5	29,0	39,4	29,0	42,9	57,2	39,2	52,0	54,3
24,6	19,7	48,1	34,4	33,9	33,6	39,2	31,6	50,4	20,8
27,5	31,3	44,8	22,2	43,2	41,4	52,0	48,1	58,2	36,7
6,7	6,1					52,9	29,0		
Mittel: 22,4	23,4	28,0	27,1	39,5	37,3	53,3	44,6	54,7	37,3

Trägt man die in der Tabelle 2 angeführten prozentischen Werte für die Stoffwechselsteigerung als Ordinaten in ein Millimeterpapier mit logarithmisch geteilter Abszisse ein, so liegen die den Gaben von 0,5—4,0 mg unseres Standardpulvers entsprechenden Punkte annähernd auf einer Geraden. Das gilt sowohl für die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs, als auch für die Steigerung der Kohlensäureproduktion. Diese Standardkurve, die unseren Auswertungen zugrunde gelegt wurde, wird in der nachstehenden Abbildung veranschaulicht. Berechnet man die Abweichungen der mit je 10 Tieren ermittelten einzelnen Punkte von dieser Eichkurve, so kann man einen mittleren Fehler einer einzelnen Bestimmung mit 10 Tieren von ± 17,7 % berechnen. Der Fehler wird natürlich noch geringer, wenn nicht nur mit einer einzelnen Dosis, sondern mit 2 oder 3 verschiedenen Gaben an 2—3 Gruppen von je 10 Tieren die Auswertungen vorgenommen werden.

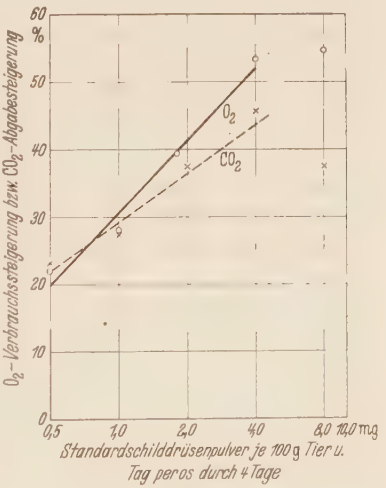


Abb. 1.

Man kann auch den algebraischen Ausdruck für die Abhängigkeit der prozentischen Zunahme des Sauerstoffverbrauchs von der Größe der pro Tag und 100 g Meerschweinchen verabreichten Menge unseres Standardpulvers berechnen. Man erhält dabei die Gleichung:

$$y = 35{,}5\ x + 30{,}9.$$

Setzt man in dieser Gleichung für y den mit einer bestimmten Dosis eines unbekannten Präparats erhaltenen Wert für die prozentische Zunahme des Sauerstoffverbrauchs ein und löst die Gleichung nach x auf, so erhält man den Logarithmus der Anzahl von mg, die von unserem Standardpulver gegeben werden müssen, um die gleiche Stoffwechselsteigerung zu bewirken. Wir bezeichnen 1 mg unseres Standardpulvers als eine Stoffwechseleinheit. Auch für die Zunahme der Kohlensäureproduktion läßt sich eine analoge Gleichung berechnen. Sie lautet:

$$y = 23{,}9\ x + 29{,}7.$$

Der niedrigere Regressionskoeffizient (Faktor von x) in dieser Gleichung gegenüber der Gleichung für den Sauerstoffverbrauch deutet an, daß bei den höheren Dosen die Kohlensäureproduktion nicht im selben Maße zunimmt, wie der Sauerstoffverbrauch, mit anderen Worten, daß bei zunehmender Schilddrüsendosis der respiratorische Quotient absinkt. Daraus geht hervor, daß erst bei den größeren Gaben der Eiweiß- und Fettbestand des Organismus in höherem Maße für die Bedürfnisse des Stoffwechsels herangezogen wird. Wie aus der Tabelle 2 hervorgeht, ist bei einer Gabe von 8 mg Standardpulver die Steigerung der Kohlensäureproduktion nur 37,3%, während sie bei einer Gabe von 4 mg 44,6% beträgt. Sie ist gleich hoch, wie bei einer Gabe von nur 2,0 mg Standardpulver. Hieraus würde sich eine erhebliche Fehlermöglichkeit ergeben, wenn man eine Auswertung von Schilddrüsenstoffen nur auf der Bestimmung der Kohlensäureproduktion aufbauen wollte, da, wie unser Beispiel zeigt, mit übermaximal wirksamen Mengen untermaximale Werte für die Stoffwechselsteigerung erhalten werden können. Ein Grund mehr, nicht die Steigerung der Kohlensäurebildung, sondern nur die Steigerung des Sauerstoffverbrauchs den Auswertungen zugrunde zu legen.

Wir haben die Wirksamkeit eines mg unseres Standardpulvers als eine Stoffwechseleinheit Schilddrüsenhormon definiert. Dies ist also jene Menge von Schilddrüsensubstanz, welche pro Tag und 100 g Tier 4 Tage lang an Meerschweinchen von 300—500 g verabreicht werden muß, um 100 Stunden nach der ersten Fütterung eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs um 31% und eine Erhöhung der Kohlensäureabgabe um 29% zu verursachen. Wir sind also in der Lage, die Wirksamkeit einer unbekannten Schilddrüsenzubereitung in Stoffwechseleinheiten oder in mg unserer Standardtrockensubstanz auszudrücken.

Zur Durchführung einer Auswertung eines unbekannten Präparats haben wir nun in gleicher Weise wie für die Aufstellung der Standardkurve vorgehend zunächst mit Gruppen von je 2—3 Tieren mit einer Gaben-

abstufung im Verhältnis 1 : 4 :16 : 64 eine Dosis zu ermitteln getrachtet, die untermaximale Stoffwechselsteigerungen bewirkte. Dann wurden die Versuche an Gruppen von 7—10 Tieren mit 2—4 im Verhältnis 1 : 2 : 4 verschiedenen sicher untermaximal wirksamen Dosen fortgesetzt. Sodann wurden die in den einzelnen Gruppen ermittelten Stoffwechselsteigerungen in der Eichkurve aufgesucht und so die jeder einzelnen Steigerung entsprechenden mg unseres Standardpulvers auf der zugehörigen Abszisse abgelesen. Schließlich wurde berechnet, wieviel mg des untersuchten Präparats 1 mg des Standardpulvers hinsichtlich Wirksamkeit entsprachen. Für jede Tiergruppe wurde dafür ein Wert erhalten. Die Mittelwerte der Werte aus den verwendeten 2 –4 Tiergruppen stellen das fertige Auswertungsergebnis dar. Ein Beispiel für die Art der Berechnung gibt die weiter unten angeführte Auswertung von Thyroxin.

Bei der Auswertung eines Handelspräparats nach diesen Grundsätzen fanden wir 1 mg dieses Produktes gleich 0,76 mg unseres Standardpräparats. Ein weiteres eigenes Trockenpulver aus Schweineschilddrüsen hatte nur eine Wirksamkeit, die 0,57 Einheiten je mg entsprach. Interessant ist, daß das letzte Präparat zufällig den gleichen Jodgehalt wie das Standardpulver besaß und dennoch nur etwa die halbe Wirksamkeit aufwies, ein weiterer Beleg dafür, wie wenig Sicherheit die Jodbestimmung für eine gleichmäßige Dosierung von Schilddrüsenpräparaten gewährleistet.

Uns interessierte schließlich weiter, wie sich die Wirksamkeit des Thyroxins zu der unseres Standardpräparats in unserer Versuchsanordnung verhalten würde. Wir haben zu diesem Zweck zunächst Versuche mit subcutaner Verabreichung des Thyroxins vorgenommen. Es wurde in Mengen von 4, 8 und 16 γ pro Tag und 100 g Meerschweinchen 4 Tage lang injiziert und, wie oben beschrieben, 100 Stunden nach der ersten Injektion die Messung der Steigerung des Sauerstoffverbrauchs gegenüber den Normalwerten der einzelnen Tiere bestimmt. Das Resultat stellen wir in der Tabelle 3 zusammen:

Tabelle 3. Stoffwechselsteigerung in Prozent des Sauerstoffverbrauchs nach subcutaner Injektion verschiedener Gaben von Thyroxin.

Gamma Thyroxin je 100 g Meerschweinchen und Tag subcutan		
4	8	16
20,3	21,0	47,2
15,0	49,5	36,0
20,3	31,7	51,2
18,5	31,4	40,9
16,9	32,1	18,0
35,6	41,5	39,4
15,4	31,5	47,7
28,6	39,6	53,8
	35,7	66,1
21,3 %	34,9 %	44,5 % mittlere O_2-Verbrauchssteigerung

Sucht man auf unserer Standardkurve die diesen Stoffwechselsteigerungen entsprechenden Gaben unseres Standardpräparats auf, so ergibt sich folgendes Bild:

$4\,\gamma$ Thyroxin = 0,56 mg Standard peroral
$8\,\gamma$ „ = 1,26 mg „
$16\,\gamma$ „ = 2,40 mg „

oder

1 mg Standardpulver bzw. 1 Stoffwechseleinheit = $7{,}2\,\gamma$ Thyroxin subcutan; = $6{,}3\,\gamma$ „; = $6{,}7\,\gamma$ „

= $6{,}7\,\gamma$ Thyroxin im Mittel

Die gute Übereinstimmung zeigt, daß die Dosiswirkungskurve für Thyroxin dieselbe Form hat, wie für unser Standardpulver. Da unser Standard einen Jodgehalt von 0,37 % hat, entsprechen

$3{,}7\,\gamma$ Jod in dem Standardschilddrüsenpulver peroral
$4{,}4\,\gamma$ Thyroxinjod subcutan.

Wird auch das Thyroxin als Lösung seines Na-Salzes peroral verabfolgt, so ergeben sich folgende Werte:

$16\,\gamma$ Thyroxin peroral = 1,0 mg Standardpulver,
$32\,\gamma$ „ = 2,0 mg „ .

D. h.: Auch bei peroraler Verabreichung ist der Verlauf der Dosiswirkungskurve des Thyroxins der gleiche wie nach subcutaner Darreichung, und weiter der gleiche wie der der Dosiswirkungskurve unseres Standardpulvers bei peroraler Verabreichung. Thyroxin wirkt jedoch peroral verabreicht rund 3mal schwächer als nach subcutaner Injektion. Oder mit anderen Worten, es sind wirkungsgleich:

$3{,}7\,\gamma$ Jod als Standardschilddrüsenpulver per os
= $4{,}4\,\gamma$ Thyroxinjod subcutan oder
= $10{,}4\,\gamma$ „ per os.

Mit Rücksicht darauf, daß ja keineswegs das gesamte Jod der Schilddrüse Thyroxinjod ist, bestätigen also auch unsere Versuche die schon von Mörch hervorgehobene Tatsache, daß Thyroxin schwächer wirksam ist als eine hinsichtlich des Jodgehalts äquivalente Menge Schilddrüsensubstanz. Es besteht damit die Möglichkeit, unsere Stoffwechseleinheit auch in γ Thyroxin per os oder subcutan auszudrücken. Eine Stoffwechseleinheit ist also gleich $6{,}7\,\gamma$ Thyroxin subcutan oder $16{,}0\,\gamma$ Thyroxin per os.

Zusammenfassung.

Die Beziehung zwischen der Größe einer peroral verabreichten Dosis von Schilddrüsentrockensubstanz und der durch sie bewirkten prozentischen Steigerung des Sauerstoffverbrauchs von Meerschweinchen wurde ermittelt.

Die Abhängigkeit der Stoffwechselsteigerung in Prozent des normalen Sauerstoffverbrauchs vom Logarithmus der Schilddrüsengabe ließ sich bei dem von uns benutzten Standardpräparat bei Gaben zwischen 0.5 und 4,0 mg durch eine gerade Linie ausdrücken.

Wir empfehlen als Einheit für die Wertbestimmung von Schilddrüsenpräparaten die „Stoffwechseleinheit", die durch die Wirksamkeit eines mg unseres Standardtrockenpulvers repräsentiert wird. Unter den Versuchsbedingungen (Verwendung von Meerschweinchen von 300–500 g, dreimalige Bestimmung des normalen Grundumsatzes im Laufe von 7 Tagen bei einer Versuchstemperatur von 30° am nüchternen Tier, Bestimmung der Stoffwechselsteigerung 100 Stunden nach der ersten Darreichung der Schilddrüsensubstanz, Verabfolgung des Schilddrüsenpulvers 4 Tage lang täglich, wobei die Dosis pro 100 g Tier berechnet wird) bewirkt eine Stoffwechseleinheit pro 100 g und Tag gegeben eine Sauerstoffverbrauchssteigerung um 31 % und eine Erhöhung der Kohlensäureabgabe um 29 %. Eine Stoffwechseleinheit ist wirkungsgleich 6.7 γ Thyroxin subcutan oder 16,0 γ Thyroxin per os. Letzterer Vergleich ist zulässig, weil die Dosiswirkungskurven von Schilddrüsensubstanz einerseits und Thyroxin per os oder subcutan andererseits parallel verlaufen. Es ist aber eine hinsichtlich des Jodgehalts äquivalente Menge Thyroxin deutlich schwächer als die entsprechende Menge Schilddrüsentrockenpulver wirksam.

Zwei Schilddrüsenpräparate gleichen Jodgehalts waren deutlich verschieden stark wirksam.

Literatur.

1) Bomskov, C.: Methodik der Hormonforschung, Bd. 1, S. 174–307. Leipzig 1937. — 2) Haffner, F., u. T. Komiyama: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **107**, 69 (1925). — 3) Jorpes, E. u. Mitarbeiter: Nordiska Specialitets Kommisiones Aaarsberettelse 1933. — 4) Junkmann, K.: Z. exper. Med. **97**, 155 (1935. — 5) Mörch, J. R.: Dansk Tidskrift f. Farmacie **1928**, S. 281; J. Physiol. (Brit.) **67**, 221 (1929). — 6) Oberdisse, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 151 (1931).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Ist die Lunge chemosensibel?

Von

H. Richter und A. Amann.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Juli 1940.)

Eine Reihe von Arbeiten aus diesem Institut[1] beschäftigt sich mit dem Nachweis, daß die nach Veratrin und Mistel auftretende Blutdrucksenkung mit Bradykardie auf einem im Herzen ausgelösten und im Vagus afferent geleiteten depressorischen Reflex beruht (Bezold-Effekt). Da gezeigt werden konnte, daß der Effekt unverändert auftritt, wenn die Lunge entnervt wird, war dargetan, daß die im Herzen befindlichen Rezeptoren zur Auslösung des Reflexes vollauf genügen; ob aber daneben nicht auch die Lunge in gewissem Umfange empfindlich ist und daher bei der Wirkung jener Stoffe am intakten Tier auch Afferenzen aus der Lunge eine Rolle spielen, ist nach den vorliegenden Versuchen nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Daher unternahmen wir es, die Lunge isoliert zu vergiften und dabei nach Kreislaufreaktionen zu fahnden.

Methodik.

Katzen in Chloralosenarkose. Blutdruckkanüle in der rechten Carotis. In den meisten Versuchen war die Aorta durch Ausschälen entnervt worden, weil der auftretende, teilweise Entzüglungshochdruck einen guten Hintergrund für depressorische Gefäßreflexe abgibt. — Zur isolierten Vergiftung der Lunge wurde bei eröffnetem Thorax zunächst knapp am Pericard um die Lungenschlagader und die beiden Lungenvenen je eine Fadenschlinge gelegt, die durch leichtes Anziehen die Gefäße zu verschließen gestattete; daß hierbei die Innervation der Lunge wesentlich beeinträchtigt wird, ist nicht wahrscheinlich, da die Hauptnerven der Lunge in der Tiefe durch den Plexus pulmonalis verlaufen und in den Versuchen von Schwiegk[2] und v. Saalfeld[3] Reflexe von der Lunge auf den Kreislauf und auf das Herz auch noch nach Unterbindung der Lungengefäße auftraten. Die zu prüfenden Substanzen wurden in Ringer gelöst und in einem Volumen von 2 ccm mit einer feinen Nadel in die A. pulmonalis injiziert; um eine Drucksteigerung in den Lungengefäßen zu verhindern, wurde immer zuerst die A. pulmonalis und erst nach etwa 30 Sekunden die Venen verschlossen, weil dabei, wie sich an der Farbänderung zeigt, die Lunge etwas Blut verliert. Wenn die Injektion gelingt, wird die Lunge ganz hell, sobald die wässerige Lösung das Blut aus den Gefäßen verdrängt, und daran zeigt sich, daß die injizierte Flüssigkeit mindestens bis ins Kapillargebiet vordringt. Gibt man durch Nachlassen der Schlingen die Zirkulation frei, dann wird die Lunge wieder rot, weil das eindringende Blut die injizierte Flüssigkeit fortspült. Da zwischen der Lungenstrombahn und den Kapillaren der

[1] Jarisch, A., u. H. Richter: Klin. Wschr. **1939**, S. 145; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 347, 355 (1939). — A. Jarisch: Arch. Kreisl.forsch. **7**, 258 (1940). — [2] Schwiegk, A.: Pflügers Arch. **236**, 206 (1935). — [3] Saalfeld, E. v.: Ebenda **231**, 724 (1933).

Bronchialgefäße in gewissem Umfange Anastomosen bestehen, ist damit zu rechnen, daß die injizierten Stoffe auch solange die Lungenvenen verschlossen sind, in den allgemeinen Kreislauf übertreten; diese Kommunikationen können jedoch keine große Rolle spielen, denn es zeigte sich, daß stark kreislaufwirkende Substanzen mehrere Minuten lang in der abgeschlossenen Lunge wirkungslos liegenbleiben können, um erst wirksam zu werden, sobald man die Gefäße öffnet und die Stoffe in Umlauf kommen.

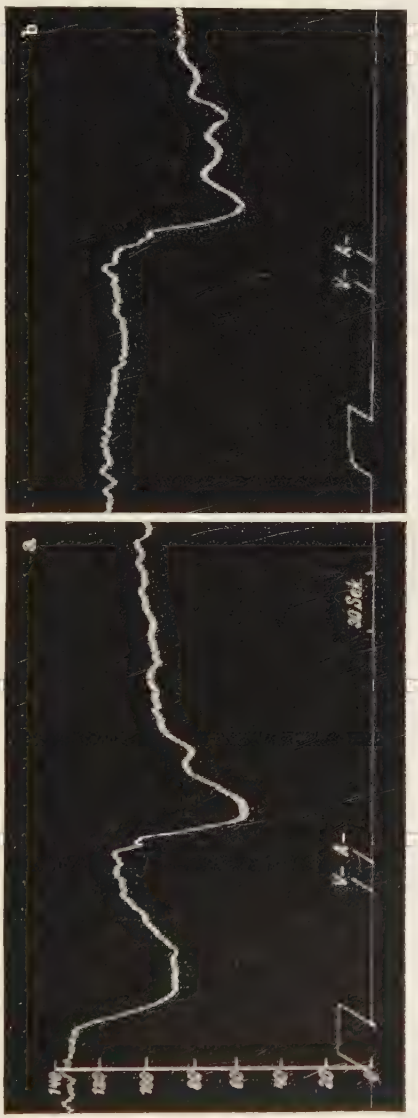


Abb. 1. Katze 3100 g in Chloralosenarkose. Aorta entnervt. Erst wurde die Lungenarterie und danach wurden die Lungenvenen verschlossen; beim Zeichen wurde 0,1 mg Veratrin. hydrochl. in die Lungenarterie injiziert; bei 1'- wurden die Venen und bei 1- die Arterie wieder geöffnet. *a* erste Injektion, *b* dritte Injektion. Der Erfolg der zweiten Injektion entsprach etwa dem Mittel zwischen der ersten und der dritten.

Wirkung des Pulmonalisverschlusses.

Brunelli[4] beobachtete ein Ansteigen des Carotisdruckes, wenn der Pulmonalisdruck fiel, und Henze[5] sah das gleiche beim Abklemmen der linken A. pulmonalis. In unseren Versuchen stieg der Carotisdruck in fast allen Fällen an, sobald die Pulmonalis mit der Fadenschlinge oder auch mit einer Pinzette verschlossen wurde und fiel erst wieder bei der Öffnung ab. Die Drucksteigerung betrug bis zu 40 mm Hg und manches Mal glich die Reaktion völlig dem Erfolge einer Carotisabklemmung. Kälteblockierung des Vagus war ohne jeden Einfluß. Wir haben die Erscheinung nicht weiter verfolgt und wollen nur erwähnen, daß die Gegend der Lungenwurzel offenbar sehr empfindlich ist, da man allein schon durch Ziehen am Gewebe mit einer Pinzette, aber selbst durch bloße Berührung mit einer Sonde unter Umständen Drucksteigerungen auslösen kann. Takino[6] fand auch den extrapulmonalen Abschnitt der Lungenarterie reich an sensiblen Nervenendigungen und erwähnt, daß seine mechanische Reizung beim Kaninchen in Versuchen von Koya Abwehrbewegungen zur Folge hatte.

[4] Brunelli, B.: Arch. Farmacol. per. **56**, 557 (1933). — [5] Henze, C.: Arch. internat. Pharmacodynam. **53**, 44 (1936). — [6] Takino, M.: Acta Scholae med. Kyoto **15**, 321 (1932).

Veratrin.

Injiziert man am frischen Tier 0,05—0,1 mg Veratrin in die aus dem Kreislauf ausgeschaltete Lunge, dann tritt sofort eine nicht sehr hochgradige Blutdrucksenkung und Pulsverlangsamung ein, die 2—3 Minuten anhält. Läßt man nun das Blut durch Öffnen der Schlingen wieder durch die Lunge laufen und dadurch die injizierte Lösung in den Kreislauf übertreten, dann folgt die typische, starke Blutdrucksenkung mit Bradykardie, wie man sie nach der intravenösen Injektion zu sehen bekommt (Abb. 1a). Wenn man die Injektion wiederholt, dann fällt die Reaktion bei unterbrochener Lungenzirkulation viel schwächer aus und kann schon bei der dritten Injektion fehlen (Abb. 1b). Wird die Lunge entnervt, dann kommt sie überhaupt nicht zustande.

Es zeigt sich somit, daß auch von der Lunge aus ein depressorischer Kreislaufreflex mit Veratrin ausgelöst werden kann; er unterscheidet sich jedoch vom typischen Bezold-Effekt durch eine beträchtliche Tachyphylaxie, durch die kürzere Dauer und die wesentlich geringere Stärke.

Mistel.

Die Injektion von 0,5—2,0 mg des nach Winterfeld[7] gereinigten herzwirksamen Stoffes bei aufgehobener Zirkulation ist ohne jegliche Wirkung auf den Blutdruck. Es ändert sich auch nichts, wenn man 1—2 Minuten später die Schlingen an der Lungenwurzel löst; die Lunge wird dann auch nicht mehr rot, weil sich die Gefäße so stark kontrahieren, daß die injizierte Lösung nicht ausgespült werden kann. Die in den Lungengefäßen liegenbleibende Mistellösung entfaltet ihre Kontrakturwirkung auch bald auf die Bronchialmuskulatur, was sich daran zeigt, daß die Atembewegungen schwächer werden und die injizierte Lunge in Kürze völlig stillsteht.

Diese Beobachtung ist methodisch wichtig, denn sie zeigt, daß die in die Pulmonalis injizierte Substanz sich rasch über das ganze Lungenparenchym ausbreitet; sie entspricht ferner der Angabe von Ebster und Jarisch[8], daß nach der intravenösen Injektion größerer Mengen von Mistelauszügen der Pulmonalisdruck ansteigt und das rechte Herz maximal überdehnt wird, wobei das linke leerläuft. Dieser Mechanismus muß bei der tödlichen Wirkung größerer Mistelgaben eine Rolle spielen und ist eine Folge der unmittelbar die Gefäße verengenden Wirkung, die sich auch bei der Injektion in die Aorta[8] und am Trendelenburgschen Gefäßpräparat[9] feststellen ließ.

Nikotin, Lobelin und Natriumsulfid.

Die Arbeiten von Heymans und seinen Mitarbeitern[10] haben gelehrt, daß diese Stoffe die Chemorezeptoren im Glomus caroticum erregen und dadurch blutdrucksteigernd, pulsverlangsamend und atmungsanregend

[7] Winterfeld, K.: Sci. pharm. (Wien. pharm. Wschr.) 1938, S. 105. — [8] Ebster, H., u. A. Jarisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **145**, 297 (1929). [9] Hanzlik, P. J., u. W. O. French: J. Pharmacol. (Am.) **23**, 269 (1924); Janssen, S.: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **1938**, S. 215. — [10] Heymans, C., u. J. J. Bouckaert: Erg. Physiol. usw. **41**, 28 (1939).

wirken. Comroe[11] zeigte das gleiche für die Chemorezeptoren an der Aorta mit Lobelin und Versuche von J. F. und C. Heymans mit Nikotin[12], sowie von Verdonk[13] mit Na_2S weisen darauf hin, daß bei der Wirkung dieser Stoffe auf die Atmung thorakale Afferenzen eine Rolle spielen.

Es war naheliegend, diese Stoffe in die Lunge zu injizieren. Das Ergebnis war negativ. Solange die Substanzen bei aufgehobener Zirkulation in der Lunge lagen, geschah nichts und es traten ihre bekannten Wirkungen erst auf, wenn man sie in den Kreislauf übertreten ließ (Abb. 2).

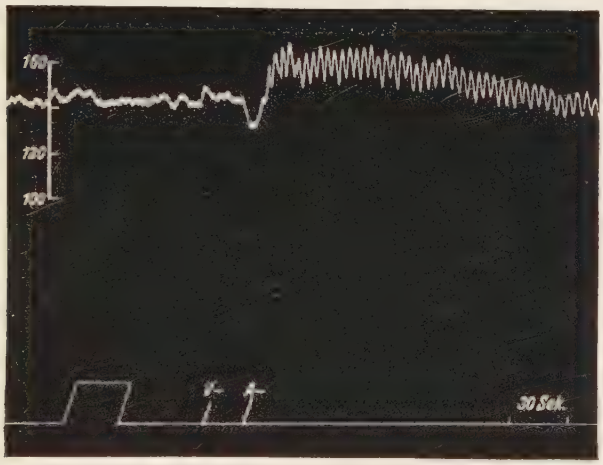


Abb. 2. Katze 2600 g in Chloralosenarkose. Aorta entnervt. Erst wurde die Lungenarterie und danach die Lungenvenen verschlossen; beim Zeichen wurde 0,1 mg Nikotin (Nikotin. tartar. auf Base berechnet) in die Arterie injiziert. Bei *V*- wurden die Venen und bei *A*- die Arterie geöffnet, danach setzt eine Drucksteigerung mit lebhaften Atembewegungen ein.

Formaldehyd.

Formaldehyd gilt als starkes Reizmittel und seine Dämpfe wurden mehrfach zur Reizung der tieferen Luftwege benützt; Brodie und Russel[14] sahen dabei Blutdrucksenkung und Pulsverlangsamung auftreten. Wir injizierten eine 2%ige Lösung in die aus dem Kreislauf ausgeschaltete Lunge, jedoch ohne Erfolg; erst nachdem die Zirkulation durch die Lunge freigegeben worden war, kam es zu einer Blutdrucksenkung, die nach den Beobachtungen von Jacobj[15], Vechiu und Gautrelet[16] als peripheren Ursprungs aufzufassen ist.

Besprechung der Ergebnisse.

Seinerzeit spielte die Frage, ob die Lunge für Erstickungsblut empfindlich sei, für das Problem der Atmungsregulierung eine große Rolle;

[11] Comroe, J. H.: Amer. J. Physiol. **127**, 176 (1939). — [12] Heymans, J. F., u. C. Heymans: Arch. internat. pharmacodynam. **32**, 9 (1926). — [13] Verdonk, A.: C. r. Soc. Biol. Paris **126**, 64 (1937). — [14] Brodie, T. G., u. A. S. Russel: J. Physiol. (Brit.) **26**, 92 (1900). — [15] Jacobj, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **98**, 55 (1923). — [16] Vechiu, O., u. J. Gautrelet: C. r. Soc. Biol. Paris **96**, 1213 (1927).

sie wurde von J. F. und C. Heymans[17] in negativem Sinne entschieden. Seither stellte sich heraus, daß als Fühlorgane für den CO_2- bzw. O_2-Gehalt des Blutes nur die epitheloiden Körperchen am Carotissinus und an der Aorta in Betracht kommen; die Chemorezeptoren für die physiologischen Blutbestandteile sprechen aber in charakteristischer Weise auch auf Nikotin, Lobelin, Na_2S an. Wenn wir nun bei der Injektion dieser Stoffe in die aus dem Kreislauf ausgeschaltete Lunge jegliche Reaktion vermißten, dann entspricht dies nur der von J. F. und C. Heymans festgestellten Unempfindlichkeit der Lunge gegen Erstickungsblut und man fühlt sich berechtigt, das Vorkommen von Chemorezeptoren, im derzeit gebräuchlichen Sinne des Wortes in der Lunge gänzlich zu leugnen. Es entspricht dies auch den entwicklungsgeschichtlichen Überlegungen die Koch[18] über die Herkunft und die Verteilung der Chemorezeptoren im allgemeinen äußerte.

Wie ist aber die nach der Injektion von Veratrin in die kreislaufmäßig isolierte Lunge auftretende depressorische Reaktion zu deuten?

Verglichen mit der reflektorisch über das Herz zustande kommenden ist sie schwächer, von kürzerer Dauer und vor allem durch die Wiederholung der Injektion rasch zu vernichten. – Eine ähnliche Erscheinung war von Jarisch[19] am isolierten Carotissinuspräparat des Hundes beobachtet worden, und wir gelangten bei der Katze zu ganz übereinstimmenden Ergebnissen: ohne den Carotissinus freizulegen, injizierten wir durch die A. thyreoidea 0,01—0,02 mg Veratrin in die Carotis; der Erfolg war eine sogleich einsetzende, mäßig starke Drucksenkung mit Bradykardie von 1—3 Minuten Dauer, die bei der Wiederholung rasch verschwand; wurden nach dem Unwirksamwerden dieser Mengen 0,04—0,05 mg Veratrin injiziert, dann setzte mit beträchtlicher Latenz der große Effekt ein, offenbar nachdem das Veratrin aus der Peripherie in die allgemeine Zirkulation zurückgekehrt war. Injiziert man von vornherein eine größere Dosis, z. B. 0,05 mg in die Carotis, dann bleiben die nachfolgenden kleinen Dosen völlig wirkungslos. Da das Veratrin ganz allgemein Nerven erst erregt und danach lähmt[20], läßt sich dies ungezwungen auf eine unspezifische Erregung von Fasern depressorischer Nerven zurückführen. Es genügt sogar, auf den freigelegten Halsvagus ein Wattebäuschchen mit einer 1‰igen Veratrinlösung aufzubringen, um Kreislaufreaktionen, meist Senkung, seltener Steigerung des Blutdruckes, aber auch Pulsverlangsamungen auszulösen, und wenn man etwas Veratrin in den Plexus brachialis injiziert, treten in den zugehörigen Muskeln Zuckungen auf und es steigt der Blutdruck etwas an. In der Lunge sind nun in der Tat zwei Reflexmechanismen mit depressorischer Wirksamkeit bekannt, auf deren Erregung man den

[17] Heymans, J. F., u. C. Heymans: Arch. internat. Pharmacodynam. **33**, 270 (1927). — [18] Koch, E.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **13**, 54 (1940). — [19] Jarisch, A., u. H. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 348 (1939). — [20] Graham, H. T., u. H. S. Gasser: J. Pharmakol. (Am.) **43**, 163 (1931).

pulmonalen Veratrineffekt beziehen könnte, nämlich der Mechanismus, der bei Drucksteigerung in den Lungengefäßen eine Drucksenkung im großen Kreislauf mit Bradykardie hervorruft (Brunelli[4], Schwiegk[2], Daly und Mitarbeiter[21], Schweitzer[22], Hochrein und Schneyer[23]) und der Mechanismus, der bei starkem Aufblähen der Lunge Bradykardie mit geringer Blutdrucksenkung hervorruft (v. Saalfeld[24]).

Über depressorische Reflexe durch Erregung der Vagusendigungen in der Lunge berichteten auch Brodie und Russel[14] nach dem Einblasen reizender Dämpfe, sowie Fegler[25] nach der intravenösen Injektion von Chlorarsinen; diese Befunde sind jedoch vieldeutig. Anitschkow[26] sah bei der Perfusion einer isolierten Lungenhälfte mit Ammoniumchlorid eine Hemmung der Atmung eintreten; ob es dabei auch zu Kreislaufreaktionen kommt, wurde anscheinend nicht untersucht.

Für die Wirkung des Veratrins am ganzen Tier ergibt sich aus unseren Versuchen, daß man bei der ersten Injektion mit mehrfachen Angriffspunkten für die Auslösung des depressorischen Reflexes zu rechnen hat: am Herzen (Bezold-Effekt), an der Lunge und am Carotissinus; die letzten beiden erschöpfen sich aber im Gegensatz zum Bezold-Effekt rasch und damit hängt es offenbar zusammen, daß die erste Veratrininjektion am frischen Tiere immer besonders stark wirksam zu sein pflegt.

Für die Mistel läßt sich nunmehr sagen, daß der im Halsvagus blockierbare Kreislaufreflex ausschließlich aus dem Herzen kommt, da, wie schon früher gezeigt wurde, andere Rezeptoren nicht mehr in Frage kommen.

Zusammenfassung.

Die großen Gefäße der linken Lunge wurden zeitweilig verschlossen und die zu prüfenden Stoffe wurden in die A. pulmonalis injiziert.

Nikotin, Lobelin, Natriumsulfid und Formaldehyd sind wirkungslos, solange sie in der Lunge liegen und wirken erst, wenn man das Blut wieder durch die Lunge laufen läßt und die Stoffe in den allgemeinen Kreislauf gelangen. Die Mistel ist von der Lunge aus gleichfalls ohne jegliche Wirkung auf den großen Kreislauf; in der Lunge selbst bewirkt sie eine Kontraktur der Gefäße und der Bronchialmuskeln.

Veratrin wirkt von der Lunge aus depressorisch; diese Wirkung erschöpft sich aber bei wiederholten Injektionen sehr rasch und unterscheidet sich dadurch und durch die geringe Stärke von dem kardial ausgelösten Bezold-Effekt.

Abklemmung der linken A. pulmonalis erzeugt für die Dauer des Verschlusses eine Blutdrucksteigerung.

[21] de Burgh Daly, G. Ludany, A. Todd und E. B. Verney: Quart. J. exper. Physiol. **27**, 123 (1937). — [22] Schweitzer, A.: J. Physiol. (Brit.) **87**, 46 P. (1936); Die Irradiation autonomer Reflexe, Basel 1937. — [23] Hochrein, M., u. K. Schneyer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 265 (1937). — [24] Saalfeld, E. v.: Pflügers Arch. **231**, 33 (1933). — [25] Fegler, F.: C. r. Soc. Biol. Paris **100**, 218 (1929). — [26] Anitschkow, S. V.: Arch. internat. Pharmacodynam. **54**, 193 (1936).

Aus den Biologisch-chemischen Laboratorien der A. G. Medicinalco, Kopenhagen S.

Die Ausscheidung des β-Phenylisopropylamins bei Menschen.

Von

Erik Jacobsen und **Inger Gad.**

(Eingegangen am 5. August 1940.)

In den letzten fünf Jahren hat β-Phenylisopropylamin nicht allein klinisch, sondern auch bei Laien gegen Müdigkeit und Schläfrigkeit oder als Arbeitsstimulanz eine ausgedehnte Anwendung gefunden, und der Gebrauch der Salze dieses Amins ist jetzt ziemlich verbreitet.

Die Verhältnisse dieses Stoffes im Organismus sind indessen nicht ganz aufgeklärt, und gewisse Unübereinstimmungen sind noch zu klären.

D. Richter (1) hat bei Menschen nach Einnahme verschiedener Amine, hierunter auch des β-Phenylisopropylamins, die Ausscheidung in den Harn untersucht. Nach Einzeleingaben hat er 80% der gesamten gegebenen Menge wiedergefunden, und noch 48 Stunden nach der Eingabe konnte er das Amin im Harn nachweisen.

Blaschko, Richter und Schlossmann (2) haben bei Vitroversuchen gefunden, daß die Oxydation des β-Phenylisopropylamins bei Vorhandensein von Organbrei sehr langsam oder gar nicht erfolgt. Im Gegensatz hierzu wurden Adrenalin oder β-Phenyläthylamin durch die Aminooxydasen in den Geweben angegriffen. Indem er sich auf diese Untersuchungen stützt, neigt Richter zu der Anschauung, daß das β-Phenylisopropylamin nicht, oder faktisch eigentlich nicht im Organismus abgebaut wird, sondern fast quantitativ in den Harn ausgeschieden wird.

In einem gewissen Gegensatz hierzu stehen die Ergebnisse unserer Untersuchungen (3) mit Kaninchen, wo wir zeigen konnten, daß gegebenes β-Phenylisopropylamin bei diesen Tieren nur zu 10% unverändert ausgeschieden wurde, während rund 90% in irgendeiner Weise im Kaninchenorganismus umgebildet oder abgebaut wurde. Wir haben daher die Ausscheidung in Menschenharn nach Eingabe von β-Phenylisopropylamin mit unserer Technik aufgenommen, um zu konstatieren, ob ein prinzipieller Unterschied zwischen Menschen und Kaninchen besteht, oder ob sich andere Erklärungen der Unübereinstimmung zwischen Richter und unseren Resultaten finden ließen.

Nach Richters Analyseverfahren wurde der Harn nach Alkalisierung mit Petroleumäther ausgeschüttelt. In der Petroleumätherphase wurde das β-Phenylisopropylamin stufenphotometrisch nach Zusatz von Pikrinsäure und Chloroform bestimmt.

Es ist uns nicht gelungen, mit dieser Methode durchzukommen, weil es uns unmöglich war, einen Petroleumäther zu finden, der imstande war, dem Harn zugesetztes Amin quantitativ auszuschütteln.

Brauchbare Resultate erreichten wir indessen mit der Methode, die von uns bereits bei Kaninchenorganen verwendet wurde (4), wo man den Harn mit Wasserdampf nach schonender Alkalisierung in Vakuum destilliert und das Amin aus dem Destillat mit Benzol ausschüttelt.

Nach diesem Verfahren haben wir immer zu Harnproben zugesetzte Mengen β-Phenylisopropylamin wiederfinden können, während die Blindwerte in der Mehrzahl der Versuche so geringfügig gewesen sind, daß sie keinen wesentlichen Einfluß auf die Resultate ausüben konnten.

Technik.

Der Harn oder eine passende Portion des Harns wurde in einen 2 Liter-Rundkolben gebracht, in dessen Stopfen sich außer dem zu einem Kühler führenden Rohr auch ein langes, fast bis zum Kolbenboden führendes Glasrohr befindet. Das Glasrohr ist oben mit einem regulierbaren Hahn versehen, wodurch man den Luftstrom und damit den Destillationsdruck regulieren kann. Als Vorlag wird ein Vakuumkolben mit 10 ccm 2 n H_2SO_4 verwendet, unter dessen Oberfläche die Kühlerspitze ausmündet. Dem Harn wird ein Überschuß von MgO zugesetzt, indem man die Reaktion mit ein paar Tropfen Phenolphthaleinlösung kontrolliert. Der Kolben wird auf dem siedenden Wasserbad geheizt. Mittels eines Wassersaugers wird ein Luftstrom durch Analyse und Vorlag gesaugt, indem der Hahn auf dem Glasrohr so eingestellt wird, daß der Destillationsdruck, auf einem Quecksilbermanometer abgelesen, 100—200 mm ausmacht. Man destilliert so lange, bis der Destillationskolben beinahe leer ist.

Das Destillat wird mit NaOH alkalisiert und dreimal mit insgesamt 150 bis 200 ccm Benzol ausgeschüttelt. Die vereinigten Benzolschichten werden nach Auswaschen mit 2 × 10 ccm Wasser mit 20 ccm 0,1 n HCl und 2 × 15 ccm Wasser ausgezogen. Zu diesen Auszügen, insgesamt 50 ccm, werden 10 ccm 2 n NaOH gesetzt, und die Lösung sorgfältig dreimal mit 20,0, 20,0 und 10,0 ccm aus einer Bürette abgemessenes Benzol ausgeschüttelt. Die vereinigten Benzolauszüge, welche genau 50,0 ccm ausmachen, werden mit 3 × 10 ccm CO_2-freiem Wasser ausgewaschen und nachher, um die letzten Reste von Wasser zu entfernen, zentrifugiert.

5 ccm des Benzols = $^1/_{10}$ des gesamten Analysematerials werden in ein 10 ccm Meßkölbchen pipettiert, 0,2 ccm 2,5%ige Pikrinsäure in chloridfreiem Chloroform und chloridfreies Chloroform bis zur Marke zugesetzt. Diese Lösung wird im Stufenphotometer (Filter S 43) gegen eine durch Zusatz von derselben Menge Pikrinsäure und Chloroform zu 5 ccm reinem Benzol hergestellte Blindprobe photometriert. Um gute und reproduzierbare Extinktionen zu erreichen, muß man die Schichtdicke so wählen, daß die Extinktion nicht 0,45 überschreitet.

Die Extinktionskonstante wird durch einen Standard bestimmt, der folgendermaßen hergestellt wird: 0,100 g β-Phenylisopropylaminsulfat wird in etwa 100 ccm Wasser gelöst und nach Zusatz von 10 ccm 2 n NaOH mit 3 × 30 ccm Benzol ausgeschüttelt. Das Benzol wird in einem 100 ccm-Meßkolben filtriert und bis zur Marke mit Benzol nachgefüllt. Die Benzollösung ist 1—2 Tage haltbar. 1 ccm entspricht 1,00 mg β-Phenylisopropylaminsulfat.

Wie erwähnt, wird auch bei dieser Methode ein gewisser Blindwert gefunden. Wenn das Benzol nicht sorgfältig, wie beschrieben, mit Wasser ausgewaschen

wurde und das Amin zweimal von einer Wasserphase zu einer Benzolphase geführt wurde, lagen die gefundenen Blindwerte beträchtlich höher. Es war nicht möglich, die Blindwerte weiter herunterzubringen durch eine Fällung der pikrinsauren Salze mit einem Spezialbenzin, wie bei den Kaninchenorganen beschrieben. Es zeigte sich aber, daß die Blindwerte des Harns keinerlei Einfluß auf die Farbenbildung des β-Phenylisopropylamins hatten, wie wir es bei Kaninchenorganen mit pyridinähnlichen farbenbildenden Verbindungen gesehen haben.

Die Natur der Blindwerte ist uns, mit Ausnahme von einem einzigen Stoff, unbekannt. Der einzige farbenbildende Stoff, den wir mit Sicherheit identifizieren konnten, war Nikotin. Wir konnten das Nikotindipikrat sehr leicht folgendermaßen isolieren und von dem Pikrat des β-Phenylisopropylamins trennen:

Wenn wir nach der von Inger Gad (4) beschriebenen Methode zur Isolierung der Aminpikrate die aus Benzol ausgefällte Kristallmischung der Pikrate mit Chloroform behandeln, wird das β-Phenylisopropylaminpikrat, wie von Inger Gad beschrieben, aufgelöst, während das Nikotindipikrat ungelöst bleibt und als solches durch den Schmelzpunkt in der Mikroschmelzpunktapparatur identifiziert werden kann. Das β-Phenylisopropylaminpikrat kann mit Tetrachlorkohlenstoff aus der Chloroformlösung gefällt werden. Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der Isolierung des Nikotindipikrats nach Tabakgenuß, teils ohne und teils mit gleichzeitiger Einnahme von β-Phenylisopropylaminsulfat. Der gefundene Schmelzpunkt des Nikotindipikrats (218—220°) stimmt mit dem in Beilsteins Handbuch angegebenen und mit dem des aus reinem Nikotin hergestellten Nikotindiprikrats überein, ebenso wie der Schmelzpunkt des aus Harn und Nikotin hergestellten

Tabelle 1. Blindwerte und Isolierung von Nikotin aus dem Harn zweier Versuchspersonen.

Versuchsperson	Datum 1940	Diurese ccm	Farbenbildung entsprechend mg β-Phenylisopropylaminsulfat	Schmelzpunkt des isolierten Aminpikrats
E. J. Tabakraucher, 3—5 Zigarren täglich	19. 2.	730	1,95	218—220°*
	20. 2.	470	1,52	
	21. 2.	500	3,14	
	22. 2.	550	4,31	
	23. 2.	630	2,40	
J. H. Tabakraucher, etwa 10 Zigaretten täglich	1. 3.	760	0,54	
	4. 3. 20 mg β-Phenyl-isopropylamin-sulfat	800	4,27	1. 216—220°* 2. 139—140°**
	5. 3.	1220	1,20	218—220°*
	6. 3.	740	0,56	

* Pikrat in $CHCl_3$ schwer löslich. Schmelzpunkt des Nikotinpikrats 218 220° (Beilsteins Handb.). — ** Pikrat löslich in $CHCl_3$, unlöslich in CCl_4. Schmelzpunkt des β-Phenylisopropylaminpikrats 142—143° [Inger Gad (4)].

Nikotindipikrats keine Erniedrigung aufwies. Das Rauchen einer einzigen Virginia-Zigarette gab eine Erhöhung des Blindwertes entsprechend der Farbenbildung von 0,2 mg β-Phenyl-isopropylaminsulfat.

Wegen dieser Ergebnisse, und da anzunehmen ist, daß auch andere Pyridinbasen des Tabakrauchers den Blindwert erhöhen können, haben wir das Tabakrauchen der Versuchspersonen während der Versuchsperiode untersagt.

Selbst nach Unterlassen des Rauchens zeigen sich die Blindwerte der verschiedenen Versuchspersonen sehr schwankend, indem wir Werte von 0,0 bis über 6 mg, als β-Phenylisopropylaminsulfat berechnet, gefunden haben.

Indessen haben wir gesehen, daß die Blindwerte einiger Personen ziemlich niedrig und auch von Tag zu Tag ziemlich konstant lagen. Zwei Personen, deren Blindwerte zu hoch oder zu inkonstant waren, haben wir bei den Versuchen nicht verwenden können.

Vier andere Personen dagegen, alle männliche Chemiker oder Ärzte im Alter von 33—37 Jahren, mit welchen die unten beschriebenen Versuche ausgeführt wurden, zeigten sich geeignet.

Die Versuchspersonen sammelten ihren Harn auf und nahmen das β-Phenylisopropylamin als Sulfat (Mecodrin „Mco") morgens in Tabletten zu 5 mg.

Tabelle 2. Ausscheidung in den Harn von β-Phenylisopropylamin nach einmaliger Eingabe von 20 mg β-Phenylisopropylaminsulfat.

Versuchsperson*	Datum 1940	Diurese ccm	Farbenbildung entsprechend mg β-Phenylisopropylaminsulfat	% des gegebenen Amins in dem Harn wiedergefunden
B. C.	23. 4.	730	0,34	
	24. 4.	610	0,87	
	25. 4.	1190	0,79	
	26. 4.	890	0,51	
	29. 4. **	970	6,84 (140—141°) ***	47 % (41 %) †††
	30. 4.	700	2,46 (139—140°)	
	1. 5.	910	0,77 0 †	
	2. 5.	750	0,50	
	3. 5.	580	0,66	
V. L.	26. 3.	1220	1,51	
	27. 3.	1380	0,53	
	28. 3.	1320	0,00	
	29. 3.	1160	0,22	
	1. 4.	1630	6,80 (141—143°)	46 % (40 %)
	2. 4.	850	1,86 (140—142°)	
	3. 4.	720	0,51 (141—143°)	
	4. 4.	800	0,00	
	7. 4.	1830	8,25 (140—142°)	66 % (60 %)
	8. 4.	1190	3,25 (140—142°)	
	9. 4.	990	1,74 (138—140°)	
	15. 4.	910	0,82 0 †	
E. J.	10. 3.	840	0,80	
	11. 3.	1180	5,84 (140—142°)	35 % (27 %)
	12. 3.	1150	1,24 ÷ ††	
	13. 3.	1150	0,98 0 †	

* Nichtraucher während des Versuchs. — ** Eingabe von 20 mg β-Phenylisopropylaminsulfat. — *** Schmelzpunkt des isolierten Aminpikrats. — † 0 = keine Kristalle ausgeschieden. †† ÷ = mißlungen. — ††† Vom durchschnittlichen Blindwert korrigiert.

Ausscheidung des β-Phenylisopropylamins nach einmaliger Eingabe.

Die Resultate gehen aus den Tabellen 2 und 3 hervor. Nach peroraler Eingabe von 20 mg β-Phenylisopropylaminsulfat ist die Ausscheidung von Individuum zu Individuum sehr schwankend und kann zwischen etwa 20% und etwa 70% der eingegebenen Menge variieren.

Tabelle 3. Ausscheidung in den Harn von β-Phenylisopropylamin nach Eingabe von 20 mg β-Phenylisopropylaminsulfat und die Abhängigkeit derselben von der Größe der Diurese.

Datum 1940	Versuchsperson E. J.* Diurese ccm	β-Phenylisopropylamin als Sulfat im Harn bestimmt	% des gegebenen Amins im Harn wiedergefunden	Datum 1940	Versuchsperson J. H.* Diurese ccm	β-Phenylisopropylamin als Sulfat im Harn bestimmt	% des gegebenen Amins im Harn wiedergefunden
20. 5.	510	0,56		20. 5.	780	0,42	
21. 5. **	650	4,70 (140—141°)***	37%(29%) †††	21. 5. **	1260	3,24 (141—143°)***	20% (16% †††)
22. 5.	610	2,67 (138—139°)		22. 5.	470	0,85 (140°)	
23. 5.	710	0,74		23. 5.	750	0,68	
24. 5.	1850	1,06		24. 5.	1270	0,64	
25. 5.	2640	7,70 (140—142°)	46% (38%)	25. 5.	2280	5,35 (140—141°)	36% (31%)
26. 5.	2140	1,47 (140—141°)		26. 5.	2120	1,82 (138—139°)	
27. 5.	1610	0,92		27. 5.	1820	0,73	
28. 5.	830	0,51		28. 5.	1940	0,22	
29. 5.	720	4,85 (140—141°)	34% (26%)	29. 5.	2510	5,46 (140—141°)	38% (33%)
30. 5.	750	1,90 (140—141°)		30. 5.	2060	2,06 (139—140°)	
31. 5.	1650	1,30 0 †		31. 5.	1180	0,36	
1. 6.	3540	0,91		1. 6.			
3. 6.	6400	7,94 (140—142°)	49% (41%)	3. 6.	510	3,40 (140—142°)	20% (15%)
4. 6.	2840	1,91 : ††		4. 6.	920	0,61 (0) †	
5. 6.	1140	0,54		5. 6.	1020	0,45	

* Nichtraucher während der Versuchszeit. — ** Eingabe von 20 mg β-Phenylisopropylaminsulfat. — *** Schmelzpunkt des isolierten Pikrats. — † 0 = keine Kristalle ausgeschieden. — †† : = mißlungen. — ††† Vom durchschnittlichen Blindwert korrigiert.

Ganz wie auch Richter gesehen hat, erstreckt sich die Ausscheidung des β-Phenylisopropylamins über mehrere Tage; von Wichtigkeit ist die Beobachtung, daß die Versuchsperson (V. L.), die prozentuell am meisten β-Phenylisopropylamin ausschied, eine Ausscheidung über längere Zeit aufwies, als die Versuchsperson (J. H.), die eine kleinere Menge des gegebenen Amins ausschied.

Die unverändert ausgeschiedene Menge des β-Phenylisopropylamins hängt bei denselben Versuchsindividuen teilweise von der Größe der Diurese ab (Tabelle 3), indem es bei einer größeren Diurese eine fast 50% größere Ausscheidung gibt, als bei einer kleineren Diurese erfolgt. Es scheint jedoch keine Neigung zu schnellerer Eliminierung des β-Phenylisopropylamins bei steigender Diurese zu bestehen, indem die β-Phenylisopropylaminausscheidung am zweiten Tage nach der Einnahme keine Verminderung bei der größeren Diurese zeigte.

Nach einmaliger Eingabe variierender Mengen von β-Phenylisopropylamin scheint es, als ob derselbe Prozentteil des gegebenen Amins ausgeschieden wird, unabhängig von der gegebenen Aminmenge (Tabelle 4).

Tabelle 4. Ausscheidung von β-Phenylisopropylamin in den Harn nach Eingabe variierender Mengen von Aminsulfat.

Versuchsperson	Datum 1940	Dosis von β-Phenylisopropylaminsulfat mg	Diurese ccm	β-Phenylisopropylamin als Sulfat im Harn bestimmt		% des gegebenen Amins im Harn wiedergefunden
V. L.*	1. 4.—7. 4.	20		siehe Tabelle II		46—66% (40—60% ††)
	4. 6.	—	1730	0,00		
	5. 6.	10	1270	3,03	(140—142°)**	46% (37%)
	6. 6.	—	780	1,56	(140—142°)	
	7. 6.	—	1070	0,71	0***	
	12. 6.	—	835	0,56		
	13. 6.	5	1350	2,01	(140—142°)	40% (35%)
	14. 6.	—	1130	0,65	0	
	15. 6.	—	1130	0,43		
E. J.*	21. 5.— 25. 5.— 29. 5.—3. 6.	20		siehe Tabellen II und III		34—49% (27—41%)
	5. 6.	—	1140	0,54		
	6. 6.	10	910	2,77	(140—142°)	42% (31%)
	7. 6.	—	850	1,38	†	
	11. 6.	5	1080	2,67	(140—141°)	72% (52%)
	12. 6.	—	1150	0,99	†	
	13. 6.	—	1010	0,48		
	14. 6.	5	940	2,06	(140—142°)	41% (32%)
	15. 6.	—	950	0,54		

* Nichtraucher während des Versuchs. — ** Schmelzpunkt des isolierten Pikrats. — *** 0 = keine Kristalle ausgeschieden. — † = ausgeschiedene Kristalle zu wenig für Schmelzpunktbestimmung, d. h. daß die Hauptmenge der Farbenbildung nicht auf β-Phenylisopropylamin zurückzuführen ist. — †† Vom durchschnittlichen Blindwert korrigiert.

Ausscheidung des β-Phenylisopropylamins nach wiederholter Eingabe.

Später als 3 Tage nach Eingabe des β-Phenylisopropylamins konnte bei keiner der Versuchspersonen Pikrat des Amins aus Harn isoliert werden. Wegen des relativ hohen Blindwertes ist es unsicher, ob die Ausscheidung des unveränderten Amins nach der Eingabe noch länger andauert, so daß in Wirklichkeit eine viel größere Menge des Amins ausgeschieden wird. Um dies aufzuklären, haben wir einen Versuch ausgeführt, dessen Resultat in Tabelle 5 wiedergegeben ist. Die Versuchsperson hatte hier

Tabelle 5. Ausscheidung von β-Phenylisopropylamin in den Harn während einer Periode von 33 Tagen bei einer Tageseinnahme von 5 mg β-Phenylisopropylaminsulfat.

Versuchsperson	Datum 1940	Diurese ccm	mg β-Phenylisopropylamin als Sulfat im Harn bestimmt	
E. J.*	15. 6.	950	0,54	
	17. 6.	1310	2,25 (139—140°) **	
	18. 6.	1300	2,33 (140—141°)	
	19. 6.	720	2,46 (139—140°)	
	—	—	—	
	21. 6.	500	2,00 (140—142°)	Vom 16. 6.—18. 7. einschließlich 5,0 mg β-Phenylisopropylaminsulfat täglich
	22. 6.	570	2,33 (141—142°)	
	—	—	—	
	27. 6.	560	2,50 (140—141°)	
	28. 6.	720	2,33 (140—142°)	
	—	—	—	
	17. 7.	920	2,36 (140—142°)	
	18. 7.	900	2,57 (139—140°)	
	19. 7.	660	0,72 —	
	20. 7.	1200	0,74 —	
	21. 7.	1040	0,40 —	

* Nichtraucher während des Versuchs. — ** Schmelzpunkt des isolierten Pikrats.

33 Tage lang täglich 5 mg des β-Phenylisopropylaminsulfats eingenommen. Die tägliche Ausscheidung des Amins wurde zu Anfang, in der Mitte und am Ende des Versuchs bestimmt. Es zeigte sich, daß man überhaupt keine Neigung zu erhöhter Ausscheidung des Amins gegen Ende des Versuchs finden kann, ebenso wie man ein fast momentanes Aufhören der Aminausscheidung gleichzeitig mit dem Aufhören der Amineingabe sieht. Dieses Ergebnis spricht gegen die Annahme, daß wesentliche Mengen des gegebenen β-Phenylisopropylamins in dem Organismus längere Zeit hindurch zurückgehalten werden sollten.

Ausscheidung des β-Phenylisopropylamins in den Magen.

In den obenerwähnten Untersuchungen von Erik Jacobsen und Inger Gad (3) wurde gezeigt, daß man nach intravenöser Eingabe des β-Phenylisopropylamins bei Kaninchen einen großen Teil des Amins in dem

Ventrikel finden konnte. Das Amin wird also bei Kaninchen in den Ventrikel ausgeschieden und später im Ventrikel selbst oder eher in den oberen Abschnitten des Dünndarms wieder resorbiert. In einigen der Kaninchenversuche konnten wir bis $^1/_4$ der eingegebenen Aminmenge im Ventrikelinhalt wiederfinden.

Wir können zeigen, daß man auch im Magensaft des Menschen eine ähnliche, obgleich nicht so große Ausscheidung des parenteral eingegebenen β-Phenylisopropylamins finden kann. Dieses wird durch folgenden Versuch gezeigt:

Den Versuchspersonen wurden nüchtern 20 mg β-Phenylisopropylaminsulfat subcutan gegeben. Eine Stunde nach der Eingabe bekamen die Versuchspersonen eine leichte Mahlzeit, bestehend aus 300—400 ccm Buttermilch und 50 g Zwieback. 20—30 Minuten später wurde der Mageninhalt mittels Magensonde ausgehoben. Die Analyse und vor allem die Isolierung und Identifikation des Pikrats (Tabelle 6) beweist, daß das Amin auch bei

Tabelle 6. Gehalt des Mageninhalts an β-Phenylisopropylamin nach parenteraler Eingabe von 20 mg Sulfat (siehe Text).

Versuchsperson	Etwaige Größe des Mageninhalts ccm	mg β-Phenylisopropylamin als Sulfat im Mageninhalt gefunden	Diurese der Versuchszeit	mg β-Phenylisopropylamin als Sulfat im Harn
J. H.	300	0,30	1050 ccm in 5 Stunden	2,17 mg 141—143° *
E. J.	400	0,45	130 ccm in 2 Stunden	0,97 mg 140—143° *
V. L.	20	0,13	—	—

Schmelzpunkt des Aminpikrats sämtlicher Magenspülungen: 140—142°.

* Schmelzpunkt des Aminpikrats.

Menschen in den Ventrikel ausgeschieden wird. Die Menge des gefundenen Amins deutet darauf hin, daß es sich um eine spezifische Ausscheidung dreht, indem sie überschreitet, was man finden würde, falls die gegebenen 20 mg Aminsulfat sich in der Wasserphase des Organismus gleichmäßig verteilten. Die im Ventrikelinhalt gefundenen Aminmengen sind indessen nicht sehr groß, und die Frage steht noch offen, ob ein Magen-Darmkreislauf des gegebenen Amins bei Menschen eine wesentliche Rolle spielt.

Diskussion.

Die Ergebnisse zeigen klar, daß ein gewisser Unterschied zwischen der Fähigkeit des menschlichen Organismus und des Kaninchenorganismus zum Abbau oder zur Umbildung des β-Phenylisopropylamins bestehen muß. Nach unseren früheren Untersuchungen ist das Kaninchen imstande, 20 mg β-Phenylisopropylaminsulfat innerhalb 6 Stunden zu eliminieren,

während eine der Versuchspersonen hier noch am 3. Tage nach Eingabe derselben Menge etwas β-Phenylisopropylaminsulfat in den Harn unverändert ausschied, trotzdem die gegebene Amindosis pro Gewichtseinheit nur $^1/_{40}$ der dem Kaninchen gegebenen Dosis betrug. Diese langedauernde Ausscheidung stimmt gut überein mit der Beobachtung u. a. von Erik Jacobsen und Artur Wollstein (5), daß eine schwache cerebrale Wirkung noch am 2. Tage nach der Eingabe gespürt werden kann.

Soweit sind also unsere Ergebnisse in Übereinstimmung mit Richters, der auch eine mehrtägige Ausscheidung des β-Phenylisopropylamins findet.

Andererseits haben wir den unverändert ausgeschiedenen Anteil des gegebenen Amins viel kleiner gefunden als Richter. Aus unseren Versuchsergebnissen geht hervor, daß eine gewisse Fähigkeit des menschlichen Organismus zum Abbauen oder Umbilden des β-Phenylisopropylamins vorhanden sein muß, indem 50—80% der gegebenen Aminmenge nicht im Harn gefunden werden kann. Wie schon oben hervorgehoben, geht dies ganz besonders deutlich aus dem Versuch hervor, wo die Versuchsperson täglich einen Monat lang 5 mg des Amins einnahm, und wo wir keine Steigerung der ausgeschiedenen Aminmenge während des Verlaufs des Versuchs sehen konnten: Von der während der ganzen Versuchszeit gegebenen Aminmenge, insgesamt 165 mg, haben wir höchstens etwa 80 mg unverändert wiederfinden können.

Richters Annahme, daß alles β-Phenylisopropylamin unverändert in den Harn ausgeschieden wird, können wir also nicht stützen.

Auffallend ist, daß die Fähigkeit der Versuchspersonen, β-Phenylisopropylamin abzubauen, ziemlich verschieden ist. Hierin haben wir vielleicht eine teilweise Erklärung der Unübereinstimmung zwischen Richters und unseren Ergebnissen. Richter kann zufälligerweise mit einer Versuchsperson gearbeitet haben, die einen sehr großen Anteil des β-Phenylisopropylamins unverändert ausschied.

Nach Angaben der Versuchspersonen über die subjektive Wirkung des β-Phenylisopropylamins scheint es, als ob keine Relation zwischen der Fähigkeit, β-Phenylisopropylamin zu eliminieren, und der Empfindlichkeit gegenüber der cerebralen Wirkung dieses Stoffes besteht. Die Versuchsperson J. H., die am schnellsten und am wenigsten β-Phenylisopropylamin unverändert ausschied, wurde in ihrem Schlaf sehr gestört, während die Versuchsperson E. J., die auch am 2. Tage beträchtliche Mengen ausschied, ihrerseits fast keine Einwirkung auf den Schlaf spürte.

An dieser Stelle wollen wir andeutungsweise auf die praktisch klinischen Folgerungen der hiesigen Ergebnisse eingehen. Die protrahierte Ausscheidung veranlaßt, daß man an eine Kumulation bei andauernder Medikation denken muß.

Unser langfristiger Versuch mit täglicher Einnahme von 5 mg zeigt jedoch, daß mit dieser Dosis überhaupt keine Kumulationswirkung eintritt. Dies gilt sowohl der Ausscheidung als den subjektiven Symptomen der

Versuchsperson. Wo man indessen größere Dosen gibt, deren Wirkung an der Grenze des Unangenehmen liegt (z. B. 20 mg), läuft man Gefahr, bei Wiederholung der Dosierung vor vollständigem Ablauf der Elimination der erst gegebenen Dosis diese Grenze zu überschreiten. Die größeren Dosen dürfen also nur ausnahmsweise wiederholt werden. Bei mäßigen Dosen (10 mg) muß berücksichtigt werden, daß die Fähigkeit zum Abbauen mit der gegebenen Dosis steigt (Tabelle 4), was automatisch das Kumulationsrisiko herabsetzt.

Zusammenfassung.

Wir haben bei vier Versuchspersonen die Ausscheidung in den Harn von β-Phenylisopropylamin nach peroraler Eingabe untersucht.

15—60% der eingegebenen Menge wurde im Harn unverändert wiedergefunden.

Die Ausscheidung kann bis 3 Tage nach der Eingabe nachgewiesen werden.

Bei größerer Diurese wird verhältnismäßig mehr des eingegebenen Amins unverändert ausgeschieden.

Der Prozentteil des ausgeschiedenen Amins scheint von der Größe der eingegebenen Dosis (5—20 mg) unabhängig zu sein.

Tägliche Verabreichung von 5 mg während eines Monats zeigt keine Kumulationswirkung.

Nach parenteraler Eingabe kann man β-Phenylisopropylamin im Magen nachweisen.

Aus den Versuchen kann mit Sicherheit geschlossen werden, daß jedenfalls ein Teil des β-Phenylisopropylamins im Menschenorganismus abgebaut oder umgebildet wird, obwohl dies viel langsamer als im Kaninchenorganismus vor sich geht.

Literatur.

Richter, D.: Biochem. J. **32**, 1763 (1938); The Lancet **1938**, II, S. 1275. — Blaschko, H., D. Richter u. Schlossmann: Biochem. J. **31**, 2187 (1937). — Jacobsen, Erik, u. Inger Gad: Naunyn-Schmiedebergs Arch., im Druck. — Gad, Inger: Ebenda, im Druck. — Jacobsen, Erik, u. Artur Wollstein: Acta Med. Scand. **100**, 159 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. S. Janssen.)

Die Chemie der wirksamen Stoffe der Mistel.

Von

Dr. **A. Enders**, Dr. **O. Feuchtinger** und Prof. **S. Janssen.**

(Eingegangen am 18. Juli 1940.)

I. Einleitung.

Nach Angaben der Literatur ist bekannt, daß wässerige Auszüge der Mistel (Viscum album) mannigfaltige Wirkungen auf den Kreislauf ausüben, nämlich Pulsverlangsamung, Blutdrucksenkung, Blutdrucksteigerung, Arrhythmien und zum Schluß systolischen oder diastolischen Stillstand des Herzens. Versuche, diese Wirkungen der Mistel näher zu analysieren, sind auf zwei Wegen möglich, entweder durch die pharmakologische Analyse der Erscheinungen des Organismus oder durch die chemische Aufarbeitung der bisher noch unbekannten Wirkstoffe.

Der erste Weg ist vielfach begangen worden und hat zu zahlreichen Befunden und noch zahlreicheren Deutungen der Mistelwirkung geführt. Eine Gruppe von Forschern[1–4] schließt aus der Pulsverlangsamung, der Blutdrucksenkung und der Aufhebung dieser Wirkungen durch Atropin, daß in der Mistel ein cholinähnlicher Stoff vorhanden sei, der von Dressler und Mitarbeitern[4] durch Azetylierung als Cholin identifiziert sein soll. Die andere Gruppe von Forschern[5–8] bestätigt die Wirkung auf das parasympathische Nervensystem, hält sie aber für zentral oder reflektorisch ausgelöst. Drittens ist noch eine von Ebster und Jarisch[9] als „digitalisähnlich" bezeichnete Wirkung vorhanden, die in Arrhythmien und systolischem Stillstand des Herzens besteht. Für alle diese Auffassungen lassen sich aus den mitgeteilten Angaben hinreichende Belege finden, ohne daß eine endgültige Entscheidung möglich ist.

Der andere Weg ist die chemische Aufarbeitung. Ältere Analysen[10–13] fanden in der Mistel einen flüchtigen stickstoffhaltigen Körper von der Zusammensetzung $C_8H_{11}N$, ein mehr oder weniger unbekanntes Alkaloid

[1] Kochmann, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 553 (1931). — [2] Grauford: J. amer. med. Assoc. XLII, 865 (1911). — Manslick u. Frenche: J. Pharmacol. (Am.) **23**, 269 (1924). — [4] Dressler, E., H. Kwiatkowski u. E. Schilf: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **170**, 428 (1933). — [5] Nolle, J.: Ebenda **158**, 90 (1930). — [6] Dossin: Arch. intern. Pharmacodynam. **21**, 433 (1911). — [7] Henze, C., u. W. Ludwig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 695 (1937). — [8] Jarisch, A., u. C. Henze: Ebenda **187**, 706 (1937). — [9] Ebster, H., u. A. Jarisch: Ebenda **145**, 298 (1929). — [10] Leprince: C. r. Soc. Biol. **145**, 940 (1907). — [11] Gaultier u. Chevalier: Ebenda **145**, 941 (1907). — [12] Barbieri: Arch. di farmacol. sperim. e science aff. Parma **14** (1912). — [13] Niccolini: Ebenda **43** (1927).

und zwei Glykoside mit saponinartigen Eigenschaften. Ebster und Jarisch[14] teilten dann mit, daß sie aus wässerigen Lösungen durch Adsorption an Tierkohle und Elution mit Alkohol eine Fraktion mit vorwiegend digitalisartiger Wirkung und eine zweite Fraktion mit vorwiegend blutdrucksenkender Wirkung hätten trennen können. Diese immer wieder erhobenen Angaben von mehreren Stoffen von teils alkaloider, teils glykosider Natur lassen vermuten, daß die umstrittene Wirkung der Mistel auf den Kreislauf durch das Zusammenwirken mehrerer Stoffe zustande kommt, deren Natur und Wirkung noch nicht näher bekannt ist. Die folgenden Versuche bemühen sich, die Wirkstoffe der Mistel anzureichern und wenn möglich voneinander zu trennen, also den chemischen Weg der Analyse zu gehen.

Sie wurden angeregt durch die Bitte von Prof. Winterfeld in Freiburg, einige seiner Fraktionen aus Mistelpulver auf ihre Wirkung hin zu untersuchen. Dabei stellte sich heraus, daß zunächst einmal der Einfluß der einfachsten chemischen Eingriffe auf die Wirksamkeit der Mistelstoffe untersucht werden mußte. Im Einverständnis mit Prof. Winterfeld wurden nun Versuche durchgeführt, die vielleicht weiterhelfen konnten. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen haben wir unsere Resultate verglichen und beiderseits verwendet. Im folgenden sollen die von uns ausgeführten Versuche mitgeteilt werden.

Als Wegweiser dieser Versuche diente die Herzwirkung der Mistel, der bei langsamer Dauerinfusion eintretende systolische Stillstand und in den Vergleichsversuchen die im Blutdruckversuch zu beobachtende Blutdrucksenkung.

II. Methodik.

Ebster und Jarisch[14] geben an, daß die Herzwirkung der Mistel sich gut an Kaninchen untersuchen und quantitativ auswerten lasse. Diese Methode hat uns bei unseren Versuchen gute Dienste geleistet.

Die Kaninchen wurden mit Urethan narkotisiert. Ihr Blutdruck wurde an der linken Carotis com. mit einem Membranmanometer registriert. Der zu untersuchende wässerige Auszug aus Mistelpulver wurde aus einer graduierten Bürette mit einer Geschwindigkeit von 1 ccm pro Minute intravenös infundiert, so daß der Tod der Tiere innerhalb 30 Minuten eintrat. (Das Mistelpulver wurde von der Firma Caesar und Loretz bezogen.)

III. Ergebnisse.

Bei der Infusion von weiter nicht behandelten wässerigen Auszügen der Mistel beobachteten wir, ähnlich wie die früheren Untersucher, eine vorübergehende Blutdrucksenkung, bei der Pulsverlangsamung und Pulsbeschleunigung miteinander wechselten. Dann traten Rhythmusstörungen

[14] Ebster, H., u. A. Jarisch: l. c.

auf, die zwischendurch von starken Blutdrucksteigerungen bis zum Normalwert begleitet waren. Zum Schluß fanden wir Herzstillstand und Blutdruckabfall bis zur Nullinie. Kontrollversuche ergaben nur eine geringe Streuung der letalen Dosis bei Infusion derselben Viscumlösung.

1. Die erste Frage beschäftigte sich mit der Löslichkeit der Mistelwirkstoffe in organischen Lösungsmitteln. Da die Löslichkeit in Wasser bekannt war, wurden je 50 g der pulverisierten Droge mit einem organischen Lösungsmittel im Soxhlet ausgezogen. Darauf wurde das Viscumpulver getrocknet (bei Zimmertemperatur) und dadurch von den Resten des Lösungsmittels befreit. 10 g des derart extrahierten Pulvers wurden für 12 Stunden mit der 7fachen Menge Wasser versetzt, danach die festen Substanzen abgenutscht und das Filtrat, das gegen Lackmus sauer reagierte, neutralisiert und sofort am Kaninchen ausgewertet. Die folgende Übersichtstabelle ergibt die letale Dosis der wässerigen Lösung in ccm/kg.

Tabelle 1.

Löslichkeit des Viscumpulvers in organischen Lösungsmitteln.

Extraktionsmittel	Tödliche Dosis der wässerigen Lösung in ccm/kg	Extraktionsmittel	Tödliche Dosis der wässerigen Lösung in ccm/kg
Butylalkohol	9,4	Schwefelkohlenstoff.	3,9
Äther	7,8	Toluol	7,2
Aceton	7,1	Methylalkohol	6,6
Chloroform	11,7	Pyridin abs.	8,0
Essigester	5,8	Pyridin, 50%ig	8,0
Absoluter Alkohol...	7,2	Trichloräthylen	4,1
Essigester	5,2	Nativdroge	7,2
Benzol	4,0		

Die mitgeteilten Zahlen zeigen keine wesentlichen Unterschiede zwischen den letalen Dosen des unbehandelten Pulvers und des mit Methylalkohol, absoluten Alkohol, Äther, Aceton und Toluol ausgezogenen Pulvers. Diese Lösungsmittel ändern also die Wirkungsstärke der Mistel nicht.

Auffallenderweise werden die letalen Dosen des Pulvers nach Vorbehandlung mit Essigester, Benzol, Schwefelkohlenstoff und Trichloräthylen kleiner. Worauf diese Verstärkung der systolischen Herzwirkung beruht, wurde nicht weiter untersucht; sie ist vermutlich bedingt durch die Entfernung des Chlorophylls und der fettlöslichen Substanzen. Hingegen führte die Vorbehandlung mit Pyridin eine Abschwächung der Wirkung herbei, deren Ursache später klar wurde: der Stoff, der den systolischen Herzstillstand hervorruft, ist alkaliempfindlich.

Auf Grund dieser Ergebnisse wurde bei den folgenden Versuchen das Pulver regelmäßig zuerst mit Trichloräthylen extrahiert. Diese Vorbehandlung hat die weitere Verarbeitung erleichtert.

2. In einer zweiten Versuchsreihe wurde die Löslichkeit der Wirkstoffe in Äthylalkohol von verschiedener Konzentration untersucht. Zu diesem Zwecke wurden je 10 g Nativdroge mit 70 ccm Alkohol verschiedener Konzentration 12 Stunden lang bei Zimmertemperatur ausgezogen, danach die Flüssigkeit (*a*) von dem Rückstand (*b*) abgenutscht.

Das alkoholische Filtrat (*a*) wurde bei Zimmertemperatur bis zur Trockenheit eingedunstet, mit Wasser versetzt, der unlösliche Teil abfiltriert und das Filtrat ausgewertet.

Außerdem wurde der Rückstand (*b*) des mit den alkoholischen Lösungen ausgezogenen Pulvers in essigsaurem Wasser gelöst, die Flüssigkeit abfiltriert und ebenfalls ausgewertet. Von beiden ausgewerteten Lösungen wurde ein aliquoter Teil zur Trockenrückstandsbestimmung zurückbehalten und die letale Dosis in mg/kg Kaninchen bestimmt. Die in Tabelle 2 aufgeführten Zahlen der letalen Dosis zeigen, daß bei Konzentration von 100%igem und 75%igem Alkohol der herzwirksame Stoff unlöslich in Alkohol ist. Bei dem 50%igen alkoholischen Auszug ist die Extraktion unvollkommen, da nur ein Teil des herzwirksamen Stoffes in den Alkohol übergeht. 25%iger Alkohol oder noch niedrigere Konzentrationen lösen hingegen den herzwirksamen Stoff vollkommen aus dem Pulver. Bemerkenswert ist die Beobachtung, daß 100%iger und 75%iger Alkohol teilweise die blutdrucksenkende Wirkung aufnehmen.

Tabelle 2. Löslichkeit des Viscumpulvers in Äthylalkohol verschiedener Konzentration.

Alkoholkonzentration	Filtrat (*a*)		Rückstand (*b*)
%	Herzwirkung	Blutdruckwirkung	Herzwirkung
100	124 mg/kg o. W.	Senkung	192 mg/kg s. S.
75	725 „ o. W.	„	298 „ o. W.
50	300 „ s. S.	„	430 „ s. S.
25	184 „ s. S.	—	o. W.
0	154 „ s. S.	Senkung	o. W.

s. S. = systolischer Stillstand des Herzens; o. W. = ohne Wirkung.

3. Weiterhin wurden Versuche mit Gemischen von Aceton in Wasser bei verschiedener Zusammensetzung durchgeführt. Hierbei ergaben sich ähnliche Resultate, wie die in der 2. Versuchsreihe geschilderten. Wichtiger aber waren die Ergebnisse, die durch die fraktionierte Fällung des herzwirksamen Stoffes aus wässerigen Lösungen mit Aceton erzielt wurden, da die dabei entstehenden Fällungen eine festere Konsistenz haben. Die bei Acetonkonzentrationen von 0—66%, von 66—75% und von 75—85% auftretenden Fällungen wurden ausgewertet. Die Zahlen in Tabelle 3 zeigen, daß der herzwirksame Stoff in Konzentrationen zwischen 66 und 75% am reinsten ausfiel. Die Fällung des herzwirksamen Stoffes aus Wasser durch Aceton besteht aus weißlichen Flocken, die sich über Nacht gut ab-

setzen. Sie bilden einen Niederschlag, der sich am folgenden Tage leicht abtrennen läßt. Diese Methode der fraktionierten Acetonfällung wurde in weiteren Versuchen immer wieder verwendet.

Tabelle 3. Fraktionierte Acetonfällung des wässerigen Auszuges der mit Trichloräthylen gereinigten Droge.

Acetonkonzentration:	0—66 %	66—75 %	75—85 %
Versuch I	600 mg/kg s. S.	300 mg/kg	—
Versuch II	o. W.	100 „ s. S.	o. W.
Versuch III	130 mg/kg s. S.	83 „	o. W.

s. S. = systolischer Stillstand des Herzens; o. W. = ohne Wirkung.

4. Wie schon eingangs erwähnt wurde, hatte die Vorextraktion des Viscumpulvers mit Pyridin eine gewisse Abschwächung der Wirkung des wässerigen Auszuges zur Folge. Durch eine weitere Reihe von Fehlschlägen, in denen wässerige Auszüge, die sorgfältig neutralisiert waren, nach 12 Stunden ihre Wirksamkeit verloren hatten, wurde klar, daß die herzwirksamen Stoffe durch Alkali leicht zerstört werden. Zur genaueren Untersuchung dieses Verhaltens wurde deshalb eine Versuchsreihe angesetzt, bei der das mit Trichloräthylen vorbehandelte Pulver mit Pufferlösungen von verschiedener Wasserstoffionenkonzentration 12 Stunden lang ausgezogen wurde. Die Tabelle 4 gibt die Resultate dieser Versuchsreihe wieder. Da das Viscumpulver selbst puffernde Eigenschaften hat, ändert sich die Wasserstoffionenkonzentration der zugegebenen Pufferlösung. Die

Tabelle 4. Abhängigkeit der Wirksamkeit bei der Wasserextraktion von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung.

p_H der Salzlösung I	p_H der Viscumlösung II	Trockenrückstand pro 1 ccm in mg	Letale Dosis pro kg Kaninchen in mg
1,2	2,2	20	113
2,2	3,6	20	107
3,2	4,7	18	79
6,2	4,9	26	209
8,4	5,3	21	287
9,2	5,9	23	523
10,0	7,6	—	ohne Wirkung

Da das Viscumpulver selbst stark puffernde Eigenschaften besitzt, wurde das p_H der Salzlösung vor (I) und nach Zusatz zum Pulver (II) bestimmt. Wert II ist der wirkliche Wert während der Extraktion.

mitgeteilten Zahlen zeigen, daß nach einer Extraktion mit einer Natriumacetat-Essigsäurelösung von p_H 3.2 die letale Dosis am geringsten ist. Stärker alkalische Lösungen schwächen die Wirksamkeit erheblich ab. Der herzwirksame Stoff ist also säurestabil und alkaliempfindlich.

5. Auf Grund der guten Haltbarkeit des herzwirksamen Stoffes in saurer Lösung wurden Versuche angestellt, in denen das mit Trichlor-

äthylen vorbehandelte Drogenpulver mit Eisessig ausgezogen wurde. Von den zahlreichen Versuchen in dieser Richtung soll nur die Reihe angeführt werden, in der die Abhängigkeit des Ertrages der Eisessigextraktion vom Zeitfaktor festgestellt wurde. 10 g des mit Trichloräthylen vorbehandelten Pulvers wurden zweimal hintereinander verschieden lange mit Eisessig versetzt. Jedesmal wurde der Eisessig abgenutscht, in einer flachen Schale bei Zimmertemperatur abgedunstet und der Trockenrückstand in der gleichen Menge Wasser aufgenommen. Da das Wasser nicht alle Teile des Trockenrückstandes löst, wird der unlösliche und unwirksame Teil des Rückstandes abzentrifugiert und die darüberstehende wässerige Lösung nach Neutralisation auf ihre Herzwirksamkeit ausgewertet. Vor der Neutralisation mit Natriumbicarbonat wird ein aliquoter Teil der wässerigen Lösung zur Bestimmung des Trockenrückstandes verwendet. Die Werte sind in Tabelle 5 wiedergegeben, sie zeigen, daß bei einer zweimaligen Extraktion von je 10 Minuten die Diffusion des herzwirksamen Stoffes in den Eisessig noch nicht beendet ist. Die optimale Zeit der Extraktion ist entweder zweimal je 30 Minuten oder zweimal je 40 Minuten. Unter diesen Bedingungen ist auch das Verhältnis der diffundierten Wirkstoffe zu dem mitdiffundierten Ballast am besten. Verlängert man die Dauer der Extraktion, so gehen mehr Ballaststoffe in Lösung, d. h. die Wirksamkeit nimmt ab. Ein Versuch, bei dem der Eisessig 10 Tage lang auf das Drogenpulver eingewirkt hatte, zeigte keinen großen Unterschied in der minimal letalen Dosis gegenüber den Versuchen, bei denen das Pulver 2 oder 12 Stunden mit Eisessig versetzt war. Die herzwirksamen Stoffe der Mistel sind also sehr säurebeständig. Einzelne Versuche haben ergeben, daß auch wässerig salzsaure Auszüge gut wirksam waren, doch machte die weitere Verarbeitung dieser salzsauren Auszüge Schwierigkeiten.

Tabelle 5.

Abhängigkeit des Ertrages vom Zeitfaktor bei Eisessigauszügen.
10 g des mit Trichloräthylen vorbehandelten Mistelpulvers werden zweimal mit 30 ccm Eisessig extrahiert.

Zeit	Trockenrückstand pro 1 ccm in mg	Dosis letalis in mg
2 mal 10 Minuten	8	152
2 mal 30 „	20	101
2 mal 60 „	13	104
2 mal 120 „	31	251
2 mal 12 Stunden	27	226
10 Tage	23	232

6. Auf Grund der Beobachtung, daß die Mistelstoffe sich gut in Wasser und Eisessig lösen, daß sie in organischen Lösungsmitteln unlöslich sind und daß sie durch Aceton aus den wässerigen Lösungsmitteln ausgefällt werden können, lag der nächste Schritt nahe, die Wirkstoffe aus der eisessigsauren Lösung mit anderen organischen Lösungsmitteln auszufällen.

Hinsichtlich der Handlichkeit haben sich die mit Aceton, mit Äther und mit Benzol auftretenden Fällungen als brauchbar erwiesen. In der folgenden Tabelle 6 sind die Versuche mitgeteilt, in denen die Wirkstoffe aus der Eisessiglösung durch Zusatz von Aceton fraktioniert gefällt wurden.

Tabelle 6.

100 g des mit Trichloräthylen vorbehandelten Pulvers werden zweimal mit je 300 ccm Eisessig 2 Stunden lang ausgezogen und mit Aceton fraktioniert gefällt. Die Fällung wird mit Aceton gewaschen, getrocknet und in Wasser gelöst.

Dosis letalis in mg pro kg.

Versuch:	1	2	3	4
Eisessig	121	114	95	97
Fällung von 0—55% Aceton	32	—	40	41
„ „ 55—66% „	—	11	25	37
„ „ 66—75% „	—	—	15	12
„ „ 75—80% „	—	—	5	8
Restlösung	—	—	328	—

Die Zahlen der Tabelle 6 ergeben, daß mit zunehmendem Acetongehalt der herzwirksame Stoff immer reiner ausfällt, und daß man bei Eisessig-Aceton-Konzentrationen von 66—75% Aceton und von 75—85% Aceton zu sehr wirksamen Fraktionen kommt.

7. Eine besonders einfache Methode, die herzwirksame Fraktion aus dem Eisessig quantitativ zu fällen, ergab sich mit Benzol in einem Verhältnis von 45 Teilen Eisessig zu 55 Teilen Benzol. Stellt man diese 55%ige Benzollösung her, so fällt über Nacht ein schwarzbrauner Niederschlag von sirupartiger bis öliger Konsistenz aus. Dieser Niederschlag enthält die gesamte Menge der herzwirksamen Stoffe, während der größte Teil der blutdrucksenkenden Stoffe sich in der überstehenden Lösung befindet. In den folgenden Versuchen, die in Tabelle 7 ihren zahlenmäßigen

Tabelle 7. Fraktionierte Benzolfällung aus Eisessiglösungen.

Dosis letalis in mg pro kg.

Versuch:	I	II	III	IV	V	VI	VII
Eisessigauszug	28	87	127	33	207	69	69
Fällung von 0—55% Benzol	19	13	29	13	20	23	20
„ „ 0—33% „	—	—	—	—	18	—	—
„ „ 33—55% „	—	—	—	—	5	—	—
Eisessig-Benzol-Restlösung	—	1385 o. W.	—	528 o. W.	403 o. W.	—	—

o. W. = ohne Wirkung.

Niederschlag gefunden haben, wurde das mit Trichloräthylen vorbehandelte Drogenpulver zweimal mit der dreifachen Menge Eisessig je 1 Stunde ausgezogen. Der Eisessig wurde abgenutscht, die Filtrate vereinigt und soviel Benzol hinzugefügt, daß eine 55%ige Benzollösung vorhanden war. Der ölige Niederschlag wurde am nächsten Morgen von der überstehenden

Lösung durch Abgießen getrennt und dann wieder in Eisessig aufgelöst. Der Eisessig wurde bei Zimmertemperatur in einer offenen Schale verdunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen und durch Zentrifugieren von den unlöslichen Teilen befreit. In gleicher Weise wird die abgegossene 55%ige Benzol-Eisessiglösung behandelt. Beide Lösungen wurden auf systolischen Stillstand und Blutdrucksenkung ausgewertet. In der Benzolfällung reichert sich der herzwirksame Stoff auf das 2—4fache an. Eine fraktionierte Fällung von 0—33% und 33—55% Benzol führte ähnlich wie mit Aceton zu Fraktionen von hoher Wirksamkeit, aber geringerer Ausbeute. Die aus 55% Benzol und 45% Eisessig bestehende Restlösung ist für das Herz praktisch wirkungslos, denn der aus dieser Lösung verbleibende Trockenrückstand übte auf das Herz in Mengen von 400—1300 mg keine Wirkung mehr aus, aber er senkte den Blutdruck noch erheblich.

8. Wir haben dann noch die Ausbeute untersucht, die sich bei den verschiedenen Fällungen mit Benzol, Aceton und Äther aus dem Eisessig ergab. Zu diesem Zwecke wurde ein großer Vorrat einer Viscum-Eisessig lösung hergestellt und von dieser aliquote Mengen mit Benzol, Aceton oder Äther gefällt.

a) 80 g des mit Trichloräthylen vorbehandelten Viscumpulvers wurden zweimal mit je 240 ccm Eisessig ausgezogen und die vereinigten Stammlösungen mit Eisessig auf 500 ccm aufgefüllt (Lösung A). 50 ccm dieser Lösung A wurden durch Abdunsten vom Eisessig befreit, der Rückstand wieder in Eisessig aufgenommen, der unlösliche Teil abzentrifugiert und Trockenrückstand und Wirksamkeit bestimmt. Der Gesamttrockenrückstand betrug 1.815 g, die letale Dosis lag bei 33 mg/kg, demnach enthielt der Gesamtrückstand 55 letale Dosen. Bei der Auswertung trat eine starke Blutdrucksenkung auf.

b) Andere 50 ccm der Lösung A wurden mit 55 ccm Benzol versetzt, der sich bildende Niederschlag abgetrennt und mit Benzol gewaschen. Um den Niederschlag in einer flachen Schale aufzunehmen, wurde er in wenig Eisessig gelöst, das Lösungsmittel bei Zimmertemperatur abgedunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen, die unlöslichen Teile abzentrifugiert und von der wässerigen Lösung Trockenrückstand und Wirksamkeit bestimmt. Der gesamte Trockenrückstand betrug 413 mg, die letale Dosis 12,5 mg/kg, d. h. im Gesamtrückstand befanden sich insgesamt 33 letale Dosen. Von anfangs 55 letalen Dosen wurden also 33 wiedergewonnen; das entspricht einer Ausbeute von 60%, die blutdrucksenkende Wirkung war schwach.

c) Weitere 50 ccm der Eisessiglösung A wurden mit 200 ccm Aceton gefällt, die Fällung mit Aceton bis zur neutralen Reaktion des Spülacetons nachgewaschen. Der ebenfalls neutral reagierende Niederschlag wurde in Wasser gelöst, das Unlösliche abzentrifugiert, dann Trockenrückstand und Wirksamkeit bestimmt. Es ergaben sich 27 letale Dosen in einem Gesamtrückstand von 210 mg bei einer letalen Einzeldosis von 7,8 mg kg.

Nach Acetonfällung konnten also 49% wiedergewonnen werden. Die blutdrucksenkende Wirkung war minimal.

d) Wieder 50 ccm der Eisessiglösung A wurden erneut mit 200 ccm Aceton gefällt, jedoch die Fällung nicht mit Aceton nachgewaschen, sondern sofort in einer geringen Menge Eisessig gelöst. Der durch Verdunsten des Eisessigs gewonnene Rückstand wurde in Wasser aufgenommen, nach Entfernung der unlöslichen Teile Trockenrückstand und Wirksamkeit bestimmt. Der Trockenrückstand betrug 270 mg, die letale Dosis 15 mg/kg. Insgesamt wurden also 18 letale Dosen wieder zurückgewonnen, das entspricht einer Ausbeute von 33%. Die den Blutdruck senkende Wirkung war schwach.

e) Mit 200 ccm Äther wurden weitere 50 ccm der Lösung A gefällt. Die Fällung, die bis zur neutralen Reaktion des Spüläthers nachgewaschen wurde, wurde danach in Eisessig gelöst, der Eisessig abgedunstet und die zur Trockenrückstands- und Wirksamkeitsbestimmung verwendete wässerige Lösung hergestellt. Der Gesamtrückstand betrug 1,25 g, die letale Dosis 83,5 mg/kg, wiedergefunden wurden also 15 letale Dosen gleich 27%. Die blutdrucksenkende Wirkung war stark.

f) Endlich wurden 50 ccm der Lösung A mit 100 ccm Äther gefällt, dieser Niederschlag sofort in Eisessig aufgenommen, das Lösungsmittel in üblicher Weise abgedunstet, der Rückstand mit Wasser versetzt und nach Abzentrifugieren der unlöslichen Teile Trockenrückstand und Wirksamkeit bestimmt. Gesamttrockenrückstand der wässerigen Lösung gleich 800 mg, letale Dosis gleich 38,4 mg, demnach wurden insgesamt 21 letale Dosen oder 38% wiedergefunden.

Die beste Ausbeute für die Herzwirkung mit 60% der ursprünglich wirksamen Menge wird demnach durch die Benzolfällung geliefert, es folgt dann mit 49% Ausbeute die Fällung mit 80%igem Aceton und mit 27—38% Ausbeute die Fällung mit Äther. Die blutdrucksenkende Wirkung hingegen ist am stärksten in der Ätherfällung enthalten, während sie in den Fällungen mit Aceton und Benzol nur noch schwach vorhanden ist und nach gründlicher Waschung mit Methanol ganz fehlt.

9. Um für weitere pharmakologische Versuche eine möglichst reine herzwirksame Fraktion zu erhalten, haben wir uns aus den vorliegenden Beobachtungen eine Routinemethode entwickelt, die im folgenden näher beschrieben wird.

Das Mistelpulver wird mit Trichloräthylen im Soxhlet bis zur Farblosigkeit des Extraktionsmittels vorgereinigt und dann getrocknet. Darauf erfolgt eine zweimalige Extraktion mit Eisessig von je $^3/_4$ Stunde Dauer bei Zimmertemperatur. Die kombinierten Eisessigextrakte werden nun mit Benzol derart gefällt, daß eine aus 55% Benzol und 45% Eisessig bestehende Flüssigkeit entsteht. Nachdem sich der Niederschlag abgesetzt hat, wird die darüberstehende Benzol-Eisessiglösung entfernt; sie dient als Ausgangsmaterial zur Aufarbeitung des blutdrucksenkenden Stoffes. Die Benzolfällung wird in wenig Eisessig aufgenommen und in eine flache Schale

übergeführt. Nachdem das Lösungsmittel bei Zimmertemperatur abgedunstet und die letzten Reste Eisessig im Vakuum entfernt worden sind, wird der verbleibende Trockenrückstand mit Wasser versetzt. Der unlösliche und unwirksame Anteil dieser wässerigen Lösung wird abzentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit in die vierfache Menge Aceton gegossen und kurz, aber gründlich durchgeschüttelt. Allmählich bilden sich weiße Flocken, die sich über Nacht gut absetzen. Die 80%ige Acetonlösung wird nun vorsichtig dekantiert und der Rückstand von den letzten Resten der Lösung durch Zentrifugieren befreit. Will man die wirksame Substanz in handlicher fester Form gewinnen, so löst man zweckmäßigerweise diesen Rückstand wieder in geringen Mengen Eisessig auf und fällt erneut mit Aceton durch Zusatz der vierfachen Menge. Der Niederschlag wird auf einem Sinterfilter von der Dichte 4 bis zur neutralen Reaktion der Spülflüssigkeit mit Methanol und mit Äther nachgewaschen und anschließend im Exsikkator über Phosphorpentoxyd getrocknet. Dieser Niederschlag ist ursprünglich weiß-gelb, wird aber während des Trocknens hellbraun. Die Substanz ist geschmacklos, löst sich in Wasser bei neutraler Reaktion, ist thermostabil und schäumt stark. Ihre Wirksamkeit beträgt bei langsamer Dauerinfusion am Kaninchen und an der Katze 3—5 mg/kg. Der Tod der Tiere erfolgt in systolischem Herzstillstand.

In Tabelle 8 wird ein Beispiel angeführt, in dem die verschiedenen Fraktionen, die bei den einzelnen Stufen der Verarbeitung nach der Routinemethode anfallen, quantitativ auf Herzwirkung ausgewertet wurden.

Tabelle 8. Letale Dosen der bei den verschiedenen Stufen der Verarbeitung anfallenden Fraktionen.

Eisessigauszug	260 mg/kg	s. S.
Benzolfällung	28 „	
Acetonfällung aus Wasser	11 „	
aus Eisessig	4 „	

s. S. = systolischer Stillstand.

10. Bei der Verarbeitung nach der Routinemethode bleibt nach Fällung des herzwirksamen Anteils mit Benzol in der restlichen Eisessig-Benzollösung nach dem Abdunsten ein Rückstand, der nach Auflösung in Wasser noch erheblich den Blutdruck senkt, ohne eine Wirkung auf das Herz auszuüben. Dies ist der erste Hinweis darauf, daß außer dem herzwirksamen Anteil noch ein anderer Wirkstoff in der Mistel vorhanden ist, der nur den Blutdruck senkt. Liegen noch weitere Daten für die Verschiedenheit dieser zwei Stoffe vor?

Zur Untersuchung dieser Frage wurde ein Teil des Rückstandes aus der Eisessig-Benzolrestlösung in Wasser gelöst und als Standardvergleichslösung verwendet. Als willkürliche Einheit wurde diejenige Menge angesehen, die den Blutdruck eines mit Urethan narkotisierten Kaninchens um 11—12 mm Hg senkt. Das Ausmaß der Blutdrucksenkung wurde mit der des oben angegebenen Standards verglichen und die unbekannten

Lösungen soweit verdünnt, bis auch sie den Blutdruck um 11—12 mm senkten.

In Tabelle 9 ist die quantitative Auswertung der einzelnen Stationen der Routinemethode auf Blutdrucksenkung und Herzwirkung wiedergegeben. Außerdem ist darin angegeben, um das Wievielfache sich die beiden verschiedenen Wirkungen im Verlauf der Aufarbeitung anreichern. Um auch noch einen Überblick über den Gehalt der Nativdroge der Mistel zu gewinnen, wurde auch die Wirkung des reinen wässerigen Auszuges der Mistel quantitativ ausgewertet.

Tabelle 9. Anreicherung der Wirkung auf das Herz und den Blutdruck.

Fraktion	Herzwirkung Dosis letalis in mg/kg	Wirkungssteigerung x-fach	Blutdruckwirkung mg/ccm = 11—12 mm Hg Blutdrucksenkung	Wirkungssteigerung x-fach
Wasserauszug	374	1,0	50,0	1,0
Eisessigauszug	260	1,4	8,8	6,0
Eisessig-Benzolfällung	28	13,0	3,5	14,0
Eisessig-Benzolrestlösung	900 o. W.	o. W.	0,98	50,0
Eisessig-Benzol-Acetonfällung	4	95,0	0,69	100.0
Eisessig-Benzol-Acetonrestlösung	342 o. W.	o. W.	2,9	25,0
Eisessig-Benzol-Acetonfällung nach Auswaschen mit Methanol	3	102,0	3,0 o. W.	o. W.

o. W. = ohne Wirkung.

Zunächst fällt in der Tabelle 9 auf, daß die Anreicherung der Herzwirkung im Verlauf der Aufarbeitung auf das 100fache ansteigt und daß ebenso die blutdrucksenkende Wirkung auf das 100fache erhöht werden kann. Diese hohe Anreicherung findet jedoch in verschiedenen Stationen der Aufarbeitung statt. So ist z. B. bemerkenswert, daß die Eisessig-Benzolrestlösung einen Rückstand hat, wovon rund 900 mg ohne Herzwirkung sind aber 1 mg den Blutdruck des Kaninchens um 11—12 mm Hg senkt. Umgekehrt findet sich in der Eisessig-Benzolacetonfällung nach Auswaschen mit Methanol eine Fraktion, die zwar eine hohe Herzwirkung, aber keine Blutdruckwirkung mehr hat. In diesem letzteren Falle ist es nicht möglich, das Fehlen der Blutdruckwirkung bei einer größeren Menge dieser Fraktion festzustellen, weil eben der Herztod die Zufuhr einer höheren Dosis als 3 mg verhindert.

Außerdem fällt in Tabelle 9 besonders auf, daß schon die Extraktion der Droge mit Eisessig allein genügt, um die Wirkung auf den Blutdruck um das 6fache zu steigern. Der Grund dieser Steigerung ist später von Feuchtinger untersucht worden und wird von ihm auf eine Azetylierung des blutdrucksenkenden Prinzips durch den Eisessig zurückgeführt.

Weitere Beobachtungen, die hier nicht näher ausgeführt werden sollen, sprechen noch für die Anwesenheit von zwei verschiedenen Stoffen. So

haben wir z. B. wässerige Lösungen der Eisessig-Benzolfällung der chromatographischen Adsorptionsanalyse unterworfen und später mit Wasser oder Methanol eluiert. In allen Fällen war der herzwirksame Anteil an das Aluminiumoxyd fest adsorbiert und nicht mehr eluierbar, während der blutdruckwirksame Teil sich leicht eluieren ließ. Diese Beobachtung stimmt überein mit der ursprünglichen Beobachtung von Jarisch[15] über die Adsorption an Tierkohle. Durch die chromatographische Adsorptionsanalyse gelingt es tatsächlich leicht, den blutdrucksenkenden Anteil völlig farblos und stark angereichert zu gewinnen.

Wir können außerdem zwei Tatsachen anführen, die auf eine blutdrucksenkende Wirkung neben der Herzwirkung in der getrockneten Droge hinweisen. Extrahiert man nämlich die Nativdroge mit 75 oder 98%igem Alkohol, so ist in dem Alkohol die blutdrucksenkende Fraktion vorhanden, nicht aber die herzwirksame. Ebenso kann man aus einem wässerigen Auszug die Herzwirkung an Aluminiumoxyd chromatographisch adsorbieren, während der blutdrucksenkende Anteil mit dem Lösungsmittel durchläuft.

Die pharmakologische Analyse der herzwirksamen und der blutdruckwirksamen Fraktion wird in den folgenden Arbeitenvon A. Enders und O. Feuchtinger durchgeführt werden.

Zusammenfassung.

1. In der Mistel lassen sich zwei verschiedene pharmakologisch wirksame Stoffe nachweisen: ein herzwirksamer und ein blutdruckwirksamer Stoff.

2. Der Mistelherzstoff ist in den bekannten organischen Lösungsmitteln nicht löslich. Er ist löslich in Wasser und Eisessig.

3. Das blutdruckwirksame Prinzip ist in Wasser, Alkohol, Aceton, wässerigem Äther und Eisessig löslich.

4. Beide Stoffe sind stabil in saurer Lösung und empfindlich gegen Alkali.

5. Der Herzstoff läßt sich mittels Benzol aus Eisessig ausfällen und anreichern. Der blutdruckwirksame Stoff bleibt größtenteils in der Eisessig-Benzolrestlösung; diese Lösung ist frei von Herzwirkung.

6. Der durch Fällung mit Benzol aus Eisessig gewonnene Herzstoff läßt sich durch Waschen mit Methanol von den letzten Resten des blutdruckwirksamen Stoffes befreien.

[15] Ebster u. Jarisch: l. c.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Zum Wirkungsmechanismus cholinergischer Stoffe. I.

Von

Fritz Jung.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. August 1940.)

Für die Wirkung der sogenannten Potentialgifte ist nach Gremels (1) der Zustand der Zellmembran entscheidend. Die Ausbildung des wirksamen Konzentrationsgefälles soll durch eine Auflockerung oder Verdichtung derselben geändert werden, wodurch sich eine Steigerung oder Verminderung der Wirkung des untersuchten Stoffes ergeben soll. „Zustandstoffe", d. h. Stoffe, die den Zustand der Zellgrenzflächen beeinflussen und auf diese Weise Wirkungsänderungen etwa des Azetylcholins verursachen, spielen demnach für die Beweisführung zugunsten der Potentialtheorie eine wichtige Rolle. Gremels (1) rechnet hierher Coffein, Strophanthin, ferner auch Narkotica, wie Chloroform und Chloralhydrat. Sie alle sollen über eine Verdichtung der Zellmembran die Azetylcholinwirkung steigern. Im Gegensatz dazu vergrößert Harnstoff die Durchlässigkeit tierischer Membranen und setzt, nach Heim (2), aus diesem Grunde die Azetylcholinwirkung herab. Gegen alle Versuche dieser Art läßt sich jedoch der Einwand erheben, daß der Angriff des „Zustandstoffs" vielfältiger Art sein kann und sich keineswegs einseitig an der Zellmembran lokalisieren muß, vor allem nicht am arbeitenden Herzmuskel (der in den meisten Fällen untersucht wurde). Im folgenden wurde versucht, durch Beeinflussung der Zellmembran die Wirkung des cholinergischen Carbaminoylcholins zu modifizieren; es wird damit gleichzeitig die Frage aufgeworfen, ob diese Substanz zu den Potentialgiften zu rechnen ist. Verwendet wurde das Produkt der Firma Merck Doryl.

Es ist bei solchen Versuchen von großer Bedeutung, sich auf Veränderungen an der Zellmembran zu beschränken, die einigermaßen eindeutig festliegen. Eine Vergrößerung der Permeabilität läßt sich durch Verringerung der Calciumionenkonzentration erreichen, eine Verdichtung der Zellmembran dagegen durch Tannin. Da die Harnstoffwirkung durch die Arbeiten von Heim (3) ebenfalls klar herausgestellt schien, habe ich schließlich auch diesen als „Zustandstoff" bei der Dorylwirkung geprüft.

I. Methodik.

Bei der Durchführung der Versuche am isolierten Froschherzen nach Straub ergaben sich gewisse Schwierigkeiten. Die cholinergische Wirkung zeigt sich nicht nur an einer Verminderung der Hubhöhe des Herzmuskels, sondern auch an einer Frequenzabnahme. Eine solche bleibt aber nicht immer ohne Einfluß auf die Hubhöhe der Einzelkontraktion. Am künstlich gereizten Herzen führt eine Frequenzverlangsamung zu einem Anstieg der Hubhöhe der Einzelkontraktion. Im Verlaufe einer Azetylcholinwirkung auf ein Froschherz läßt sich das ebenfalls beobachten.

Bei geringen Dosen eines cholinergischen Stoffes kann daher die auftretende Frequenzverlangsamung einen erheblichen Teil der negativ inotropen Wirkung auf die Muskulatur überdecken und damit eine Erholung vortäuschen.

Eine Beurteilung der Wirkung am diastolischen Stillstand ist ebenfalls nicht einwandfrei möglich.

Elektrische Reizung des Herzmuskels gibt uns die Möglichkeit, die Muskelwirkung des Doryls isoliert zu betrachten und damit die genannte Fehlerquelle auszuschalten. Das Herz wurde mit Hilfe einer Stanniusligatur, die Vorhof und Ventrikel trennte, an der Straubschen Kanüle befestigt. Die eine Elektrode wurde in die Nährlösung gebracht, die andere an die Herzspitze angelegt. Sie bestand aus einem dünnen, mit Tyrodelösung befeuchteten Faden, der die Mechanik in keiner Weise beeinflußte. Als Reizstromquelle diente das Wechselstromnetz. Ein Spannungsteiler (Radiopotentiometer) brachte die Spannung auf geeignete Stärke, sie wurde so eingestellt, daß das Herz gerade auf den Reiz ansprach. Die kurzzeitige Einschaltung des Reizstromes geschah durch einen Quecksilberkippschalter. Die Reizfrequenz betrug meist 17/Minute.

Als Nährlösung diente eine zuckerhaltige, mit Sauerstoff durchperlte Tyrodelösung. Die einzelnen Substanzen wurden nicht in die Kanüle gegeben, sondern in bestimmter Konzentration in Tyrodelösung gelöst und dann diese gegen die Nährlösung ausgetauscht. Für die Versuche mit Calciummangel wurde eine calciumfreie Tyrodelösung bereitet, für die Harnstoffversuche eine solche mit einem Gehalt von 1% Harnstoff.

Die Versuche wurden im Monat April und Anfang Mai durchgeführt.

II. Ablauf der Dorylwirkung.

Aus dem zeitlichen Verlauf der Wirkung eines Stoffes lassen sich einige Schlüsse auf den Wirkungsmechanismus ableiten. Für ein Potentialgift wäre, nach einem raschen Einsatz der Wirkung, eine erst schnelle, dann immer langsamere Abnahme und schließlich vollständiges Schwinden derselben charakteristisch.

Nach Dorylzugabe zeigt ein Froschherz eine sofort einsetzende Verringerung der Hubhöhe. Im Laufe der ersten Minuten nimmt sie trotz konstanter Dorylkonzentration wieder etwas zu. Diese Verminderung ist in Abb. 2 sehr schön zu sehen; wie jedoch aus den übrigen Abbildungen hervorgeht, tritt sie bei den einzelnen Herzen in sehr verschiedenem Ausmaße auf. Anschließend stellt sich das Herz auf eine ziemlich konstante Hubhöhe ein, die es sehr lange Zeit beibehält. Diese läßt sich für eine quantitative Bestimmung des Doryls gut verwenden. Erst im Laufe mehrerer Stunden klingt die Wirkung dann weiter ab. Ein gewisser Teil der Wirkungsabnahme kommt sicher einem Abbau des anwesenden Doryls

zu. Nach einem Aufenthalt von 13 Stunden im Innern eines schlagenden Herzens war nur noch die Hälfte des ursprünglichen Dorylgehaltes nachzuweisen (Abb. 1 und 2).

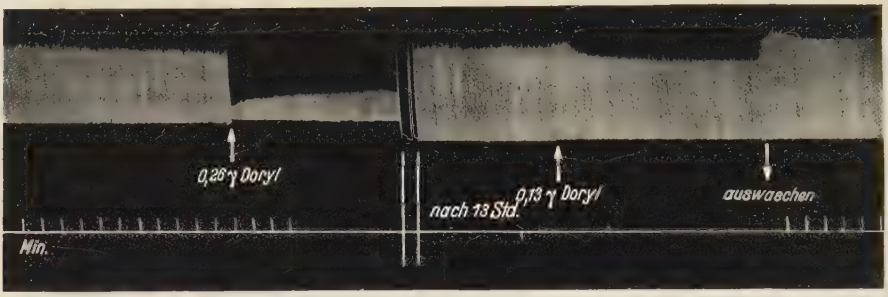


Abb. 1. Abnahme der Dorylwirkung nach langem Aufenthalt im Herzinnern. (Zerstörung des Doryls.) Zeit in Minuten. Konzentration des Doryls in γ/ccm.

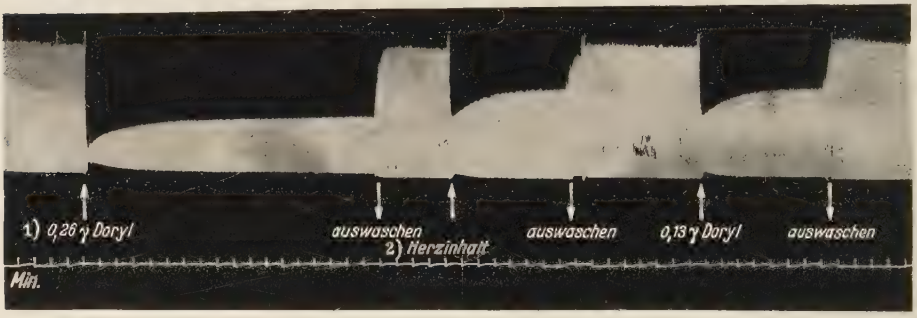


Abb. 2. Bestimmung des Dorylgehalts eines Herzinhalts (vgl. Abb. 1). Bei 1. Gabe der ursprünglichen Doryllösung, bei 2. dieselbe Doryllösung nach 13stündiger Einwirkung auf das erste Herz-Konzentration des Doryls je ccm.

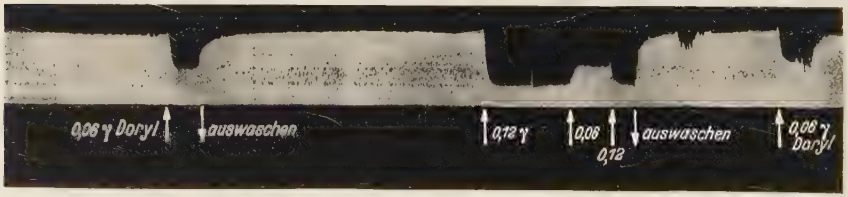


Abb. 3. Vorbehandlung eines Herzens mit größerer Doryldosis. Konzentration des Doryls je ccm.

Die schnelle anfängliche Wirkungsabnahme, wie das langsame weitere Schwinden der Wirkung würde sich als Erscheinung im Rahmen der Potentialtheorie deuten lassen, die folgenden Versuche mahnen jedoch, in dieser Hinsicht vorsichtig zu sein.

Ein Herz wird für einige Zeit unter der Wirkung einer größeren Dosis Doryl gehalten. Dann wäre zu erwarten, daß infolge des eingetretenen

Konzentrationsausgleiches von außen nach innen (der ja nach Straub und Gremels die Wirkung bedingen soll), eine etwa halb so große Dorylkonzentration keinen deutlichen depressiven Einfluß auf das Herz mehr ausübt. Wie jedoch aus dem Versuch hervorgeht, ist das in keiner Weise der Fall, vielmehr stellt sich das Herz bei Zugabe der geringeren Dosis auf genau die Hubhöhe ein, die es früher auch ohne Vorbehandlung aufwies (Abb. 3). Das läßt sich aber nicht ohne Schwierigkeit im Sinne der Potentialtheorie deuten und führt uns dazu, die Wirkung des Doryls am Herzen weniger als dynamischen Vorgang, sondern als Folge einer Zustandsänderung des Muskels aufzufassen.

III. Verringerung der Calcium-Ionenkonzentration.

Die Bedeutung des Calciums für die Zellpermeabilität ist lange bekannt und gut untersucht. Ein Calciumentzug kann die Durchlässigkeit vorübergehend, ohne allzu schwere Folgen für die Zelle selbst, erheblich herabsetzen. Am Froschherzen ist die Folge des Calciumentzugs bekanntlich ein diastolischer Stillstand. Auf Zugabe von Ca zur Nährlösung tritt augenblicklich Erholung ein. An der Tätigkeit des Herzens ist also der Ca-Gehalt der Lösung zu bestimmen.

Wird nun ein Potentialgift an ein solches, durch Ca-Entzug stillgestelltes Herz verabreicht, so sind die Verhältnisse für die Ausbildung eines wirksamen Potentials sehr ungünstig. Alle Konzentrationsunterschiede sollten sich in Kürze ausgleichen und bei Wiederzugabe des Calciums dürfte man nur noch eine ganz geringe Wirkung des Potentialgiftes sehen. Das müßte um so mehr dann der Fall sein, wenn die Vorbehandlung während des Ca-Entzugs mit einer größeren Dosis geschehen würde, als dem Herzen nachher tatsächlich gleichzeitig mit der Ca-Zugabe verabreicht wird.

Wie aus Abb. 4 hervorgeht, zeigt Doryl ein solches Verhalten in keiner Weise. Die Dorylwirkung war, wie oben, von jeder Vorbehandlung

Abb. 4. Verabreichung von Doryl an ein Herz während Entzug des Calciums. Vorbehandlung mit größerer Dosis Doryldosis.

unabhängig. Die Reaktion auf eine bestimmte Dorylkonzentration ist unter normalen und selbst besonders günstigen Permeabilitätsverhältnissen allein von dieser, und nicht von einer Vorbehandlung mit Doryl abhängig.

Ich habe oben die zuweilen zu bemerkende geringe Wirkungsabnahme des Doryls im Laufe der Zeit im Sinne der Potentialtheorie zu deuten versucht. Diese Wirkungsabnahme müßte sich durch eine vorübergehende Permeabilitätssteigerung durch Ca-Entzug sehr beschleunigen lassen. Das ist jedoch nicht der Fall, wie Abb. 5 zeigt. Sie kann also nicht als

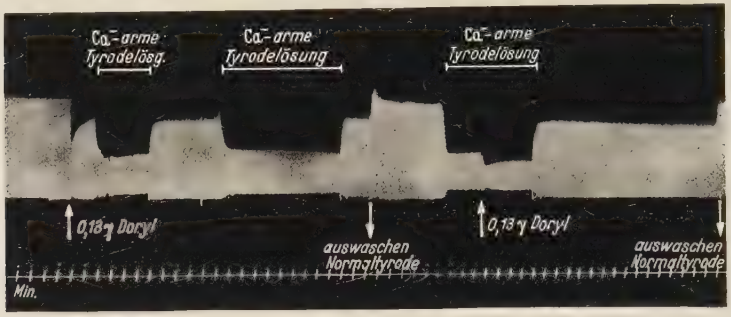


Abb. 5. Entzug des Ca während der Einwirkung von Doryl.

der Ausdruck eines zunehmenden Konzentrationsausgleichs aufgefaßt werden und wir werden uns damit begnügen müssen, sie als eine der vielen Anpassungserscheinungen an verändertes Milieu zu verstehen, die wir ja in der Natur so häufig antreffen.

IV. Doryl und Gerbstoff.

Die Wirkung des Strophanthins auf die Herzmuskelzelle wurde u. a. von Gremels im Sinne einer Verdichtung der Zellmembran aufgefaßt. In Gegenwart von Strophanthin soll daher die Azetylcholinwirkung auf den Herzmuskel erheblich gesteigert sein (1). Eindeutiger als mit Strophanthin läßt sich eine Verdichtung der Zellgrenzflächen mit Gerbsäure erzielen. Deren Wirkung auf die roten Blutkörperchen ist bekannt. Brock und Druckrey (4) haben gezeigt, daß sie einem arbeitenden Froschherzen sogar das fehlende Calciumion ersetzen kann; ein durch Ca-Mangel hypodynames Herz wird durch Gerbsäure in der Konzentration 10^{-4} erheblich gebessert. In diesem besonderen Fall läßt sich der wirksame Stoff sogar histochemisch am Wirkungsort nachweisen (4). Eine Wirkungssteigerung des Doryls durch Gerbsäure wäre ein Argument für seine Potentialgiftnatur.

Die Befunde von Brock und Druckrey konnte ich bestätigen. Größere Tanninkonzentrationen als 10^{-4} führen rasch zu systolischem Stillstand, geringere sind ohne deutlichen Einfluß. Ich habe mich daher an die angegebene Konzentration gehalten. Da die Wirkung einer Tannin-

verabreichung nicht reversibel ist, läßt sich an jedem Herzen nur einmal ein Versuch durchführen.

Die in Abb. 6 aufgezeichneten Ergebnisse zeigen eindeutig, daß der Gerbstoff keinen Einfluß auf die Dorylwirkung hat. Damit ist wieder gezeigt, daß die Eigenschaft der Zellmembran für das Doryl von unter-

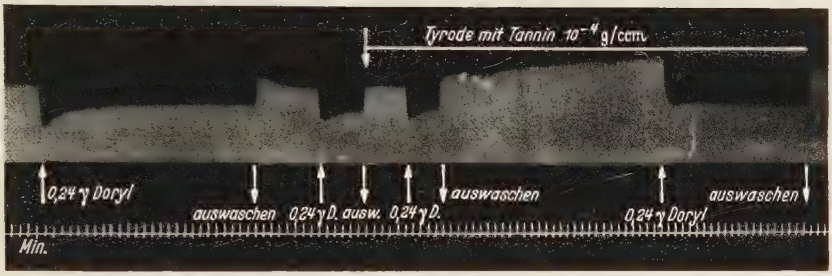


Abb. 6. Dorylwirkung vor und nach Tanninbehandlung. In dem gezeigten Beispiel wird auch eine positiv inotrope Wirkung des Tannins deutlich.

geordneter Bedeutung ist. Es wäre interessant festzustellen, wie sich Azetylcholin in diesem Falle verhält.

V. Doryl und Harnstoff.

Heim (2) (3) hat die Wirkung von Harnstoff auf die Durchlässigkeit tierischer Membranen untersucht und eine erhebliche Permeabilitätssteigerung gefunden. Er bringt diese in Zusammenhang mit der Eigenschaft des Harnstoffs, die Azetylcholinwirkung am Froschherzen zu vermindern. Da durch diese Versuche die Wirkung des Harnstoffs sicher festgelegt erscheint, habe ich in weiteren Versuchsserien die Beeinflussung der Dorylwirkung durch Gegenwart von Harnstoff in der Nährlösung geprüft.

Aus Abb. 7 geht hervor, daß der von Heim für das Azetylcholin gefundene Effekt auch für das Doryl zutrifft. In Harnstoffgegenwart ist die Dorylwirkung bedeutend geringer und auch die anfängliche Wirkungsabnahme erfolgt viel rascher. Diese Beobachtung war für Heim beweisend genug, den Harnstoff zu den „Zustandstoffen" nach Gremels zu rechnen. Das Azetylcholin ermöglicht eine eingehendere Untersuchung dieser Erscheinung nicht, da infolge seiner Unbeständigkeit seine Wirkung nicht über längere Zeit verfolgt werden kann. Das Doryl gibt die Möglichkeit, das fernere Verhalten des Herzens bei Änderung der Harnstoff- und konstanter Dorylkonzentration zu untersuchen.

Für die hierbei erhaltenen Befunde gibt Abb. 7 ebenfalls ein Beispiel. Zufügen von Harnstoff hebt die Dorylwirkung zu einem großen Teil auf. Wird aber nun, unter Beibehaltung der gleichen Dorylkonzentration, der Harnstoff wieder ausgewaschen, so zeigt sich die alte Wirkung des

Doryls unvermindert. (Abb. 8). Der Harnstoff kann daher überhaupt keinen Ausgleich des Dorylpotentials verursacht haben, sondern er ent-

Abb. 7. Verminderung der Dorylwirkung durch Harnstoff.

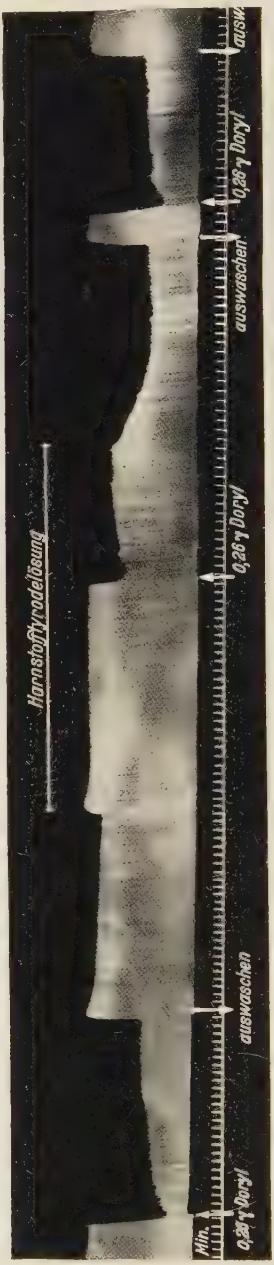


Abb. 8. Verminderung der Dorylwirkung durch Harnstoff.

faltet wohl von sich aus eine eigentümliche positiv inotrope Wirkung, die an einem durch Doryl — oder Azetylcholin — gedämpften Herzen besonders

hervortritt. Harnstoff ist also kein „Zustandstoff" im Sinne von Gremels und Heim, vielmehr hat sein Einfluß auf die Doryl- oder Azetylcholinwirkung ihre Ursache offenbar in einer Veränderung des physikochemischen Zustands der kontraktilen Muskelsubstanz selbst. Diese positiv inotrope Wirkung ist, wenn auch schwächer, schon am unbehandelten Muskel zu sehen, wo sie auch Heim beschreibt. Doch wird sie erst nach Behandlung des Muskels mit Doryl deutlich.

Das erhaltene Gesamtergebnis meiner Versuche könnte zu der Schlußfolgerung führen, daß das den übrigen cholinergischen Stoffen so nah verwandte Carbaminoylcholin sich grundsätzlich anders verhalte, wie etwa das Cholin selbst oder auch das Azetylcholin. Dieser Schluß wäre zweifellos sehr unbefriedigend. Da aber in jedem Falle feststeht, daß auch Doryl eine typische „cholinergische" vagusartige Wirkung ausübt, kann der Gedanke kaum länger aufrechterhalten werden, daß irgendein Kausalzusammenhang zwischen der cholinergischen Wirkung und einem „Potential" im Sinne der Theorie von Straub besteht.

Zusammenfassung.

1. Die vagusartige Wirkung von Carbaminoylcholin am isolierten, elektrisch gereizten Froschherzen läßt sich nach einmaliger Verabreichung über mehrere Stunden beobachten.

2. Der Wirkungsablauf des Carbaminoylcholins wird weder durch vorübergehenden Calciumentzug, noch durch Gerbstoffbehandlung, noch durch die Anwesenheit von Harnstoff beeinflußt.

3. Im Falle des Harnstoffs täuscht lediglich eine ihm zukommende, besonders hervortretende, positiv inotrope Wirkung eine solche Beeinflussung vor. Aus den erhaltenen Befunden wird geschlossen, daß auch der Einfluß des Harnstoffs auf die Wirkung des Azetylcholins nichts mit der Permeation zu tun hat, daß also Harnstoff kein „Zustandstoff" im Sinne von Gremels ist.

4. Ein Kausalzusammenhang zwischen cholinergischer Wirkung und Giftpotential kann nicht allgemein anerkannt werden.

---

1) Gremels: Erg. Physiol. usw. **42**, 53 (1939). — 2) Heim, F.: Naunyn Schmiedebergs Arch. **191**, 212 (1938); **191**, 226 (1938). — 3) Heim, F.: Ebenda **192**, 1 (1939). — 4) Brock u. Druckrey: Ebenda **188**, 186 (1938).

Die Digitalisempfindlichkeit des Herzens unter dem Einfluß einer schilddrüsenwirksamen Substanz.*

Von

Rudolf Hilbing.

Mit 2 Textabbildungen (4 Einzelbildern).

(Eingegangen am 25. Juli 1940.)

Die Empfindlichkeit des Herzmuskels gegen Digitalisglykoside ist nicht immer gleich. Es ist eine allgemeine klinische Erfahrungstatsache, daß insuffiziente Herzen gegen Digitalisglykoside empfindlicher sind als normale. Im einzelnen werden hierbei noch Unterschiede angegeben. So sprechen Herzen mit Mitralinsuffizienz besser auf Digitalis an als solche mit Aorteninsuffizienz. Von Bedeutung für die Empfindlichkeit des Herzmuskels gegen Digitalis ist auch eine Hypertrophie des Herzmuskels, die die Ansprechbarkeit auf verhältnismäßig kleine Dosen Digitalis begünstigen soll. Außer diesen Erkrankungen des Herzmuskels ist auch der Myocardzustand für die Digitalisempfindlichkeit maßgebend. So wird einer allgemeinen Erfahrung gemäß und auch auf Grund theoretischer Erwägungen (Muskelwirkung) vor der Gabe von Digitalis bei Myocarditis gewarnt.

Die Ergebnisse und Ansichten über eine besondere Empfindlichkeit bei reinen Myocardveränderungen sind nicht einheitlich. So kann z. B. das diphtheriegeschädigte Herz des Kaninchens eine erhöhte Empfindlichkeit zeigen (Dieckhoff). Bei ihren mit Diphtheriebazillen und Tuberkelbazillen infizierten Meerschweinchen fanden Heubner und Hecht normale Empfindlichkeiten. Ergosterinvergiftete Kaninchen waren bei stärkeren Schädigungen gegen toxische Strophanthindosen weniger empfindlich, die Wirkung therapeutischer Dosen war dagegen bei den stärker geschädigten Herzen deutlicher. Die isolierten Herzen phosphorvergifteter Meerschweinchen zeigen eine Überempfindlichkeit (Heubner und Hecht). Eine weitere bekannte Erscheinung ist die veränderte Digitalisansprechbarkeit bei Zuständen, die mit einer Störung der Schilddrüsentätigkeit verbunden sind. Namentlich solche Störungen, bei denen man eine Überfunktion der Schilddrüse annimmt und die mit Herzerkrankungen verbunden sind, zeigen oft schon bei den üblichen therapeutischen Digitalisdosen starke Herzwirkung.

Nehmen wir an, daß die Ursachen der Kumulierungserscheinungen der Digitalisglykoside in erster Linie in einem von der Norm abweichenden Zustand der Herzmuskelzelle bedingt sind, so sind Untersuchungen zur Prüfung der Digitalisempfindlichkeit bei nachweisbaren Myocardveränderungen gegeben. Die experimentelle Herstellung solcher Zustände am ganzen

intakten Tier ist beschränkt. Von den sich bietenden Möglichkeiten lassen sich durch Verabreichung von Schilddrüsensubstanzen nachweisbare Myocardveränderungen herstellen. Auf Veranlassung von Herrn Dr. H. Bauer habe ich deshalb an einer Reihe von Katzen, die mit Thyroxin vorbehandelt waren, die Wirkungsstärke verschiedener herzwirksamer Glykoside geprüft, um festzustellen, inwieweit die durch die Vorbehandlung verursachten nachweisbaren Myocardveränderungen die Digitalisempfindlichkeit so geschädigter Herzen verändern. Die darüber bestehenden Versuchsergebnisse und Anschauungen sind nicht einheitlich. So wird einerseits bei einer sogenannten Überfunktion der Schilddrüse eine geringere therapeutische Wirksamkeit angegeben, andererseits aber auch wegen der besonderen Flimmerbereitschaft hyperthyreotischer Herzen eine toxische Wirkung normaler therapeutischer Dosen angenommen.

Im Schrifttum finden wir eine Reihe von Versuchen an überlebenden Organen sowie am ganzen Warm- und Kaltblüter, wobei die Warmblüter in Nagetiere und in Hunde und Katzen zu trennen sind. Der Hauptgegenstand der Untersuchungen war in den meisten Fällen die hormonale Beeinflussung der Digitaliswirkung. Dem Myocardzustand wurde dabei weniger Beachtung geschenkt. Versuche an isolierten Herzen von Frosch, Ratte und Meerschweinchen nach Verabreichung von Schilddrüsensubstanzen ergaben meist eine Abschwächung der Digitaliswirkung, bei Schilddrüsenexstirpation teils eine Erhöhung, teils eine Abschwächung (Braun, Stoye, König). Am ganzen Kaninchen wurde teils eine Verstärkung der Digitaliswirksamkeit, teils auch kein Unterschied gefunden (McIntyre, Hahn und Rosenblum). Lendle fand bei seinen Versuchen über die Strophanthinbeseitigung an Kaninchen eine Beschleunigung derselben nach Schilddrüsenvorbehandlung, nach Thyreoidektomie eine Verminderung. An der Katze stellte Braun nach Thyroxinvorbehandlung eine erhöhte Resistenz fest (letale Infusion nach Hatcher-Magnus). Wenn man allerdings seine Ergebnisse auf das Anfangsgewicht berechnet, wäre die Resistenz vermindert gewesen. Am Herz-Lungenpräparat der Katze fand Dieckhoff nach langfristiger Vorbehandlung mit Thyroxin, gemessen an der letalen Strophanthindose, eine erhöhte Empfindlichkeit der Herzen. Dabei wurden enge Beziehungen zwischen morphologischen Veränderungen des Herzmuskels und erhöhter Empfindlichkeit festgestellt. Bei mittelfristiger und kurzfristiger Vorbehandlung der Tiere waren die Unterschiede gering, vielleicht war eine Neigung zur erhöhten Resistenz vorhanden.

Experimenteller Teil.

Versuchsanordnung.

Versuchstier war die Katze. Als Schilddrüsenstoff wurde Thyroxin La Roche und Schering verwendet. Die Digitalissubstanzen waren ein von der Firma Hoffmann La Roche zur Verfügung gestelltes reines Digitoxin und ebenfalls reines kristallisiertes g-Strophanthin. Als Elektrokardiograph

diente ein moderner Verstärkerapparat von Hellige, geschrieben wurde mit Silbernadelelektroden in Ableitung I, II, III. Die Tiere waren in mitteltiefer Narkose auf dem Rücken aufgespannt. Das Thyroxin und die Glykoside wurden teils subcutan, teils intravenös gegeben. Die Größenordnung der einmaligen Thyroxindosen war 2,8—4,5 mg/kg, der wiederholten Dosen 0,25 – 1,5 mg/kg, der Dosenabstand war gewöhnlich ein Tag. Die Digitalisempfindlichkeit wurde durch letale Infusion nach Hatcher-Magnus geprüft. In einigen Fällen wurde auch mit großen einmaligen und kleinen wiederholten Digitoxindosen geprüft. Nach dem Tode wurden die Tiere sofort seziert und das Herz in Formol fixiert.

1. Die Vorbehandlung mit Thyroxin.

Die in der Versuchsanordnung angegebenen Dosierungen führten zu mehr oder weniger starken Vergiftungen, die einen eigenartigen Verlauf zeigten. Ganz gleich, ob man einmalige große oder wiederholte kleine Dosen gibt, es bedarf immer einer Latenzzeit, bis die ersten Zeichen einer Wirkung festzustellen sind. Diese tritt also nur langsam ein, und entsprechend diesem langsamen Wirkungsanstieg wird auch eine lange Nachwirkung beobachtet. Für unsere Versuche war es nun wichtig, Tiere mit morphologischen Veränderungen im Herzmuskel zu erhalten, oder zum mindesten im Zustand einer stärkeren nachweisbaren Thyroxinwirkung, um dann die Digitalisempfindlichkeit zu prüfen. Wir machten die Erfahrung, daß es bei einmaligen großen und wiederholten kleinen Dosen 4—6 Tage dauert, bis es zu nachweisbaren stärkeren Wirkungen kommt. Für die Entwicklung morphologischer Veränderungen im Herzmuskel war eine Wirkungszeit von mindestens 8 Tagen erforderlich. An klinischen Symptomen stellten wir die bekannten Erscheinungen fest, wie sie auch sonst bei experimentellen Vergiftungen mit Schilddrüsensubstanzen beschrieben wurden, Gewichtsabnahme, motorische Unruhe, Haarausfall, Zittern, Durchfälle usw. Wir fanden ferner die gute Verträglichkeit einmaliger verhältnismäßig hoher Thyroxindosen und die starken Vergiftungserscheinungen, die nach wiederholten Dosen auftreten können, bestätigt.

Vorversuche, bei denen wir die Digitalisempfindlichkeit innerhalb der ersten 8 Tage nach Thyroxinvorbehandlung prüften, ergaben, daß Unterschiede der Empfindlichkeit selbst bei sehr verschiedenen Thyroxindosierungen praktisch nicht gefunden wurden. Außer dieser Einwirkungszeit von mindestens 8 Tagen bedarf es auch einer bestimmten Dosenhöhe. Für einmalige Dosen war die unterste Grenze 3,0 mg/kg, für wiederholte Dosen 2—3 mg/kg Gesamtdose.

2. Die Prüfung der Digitalisempfindlichkeit.

a) Nach einmaligen Thyroxindosen

Bei diesen Versuchen prüften wir die Digitalisempfindlichkeit durch die letale Digitoxindosis, und zwar wurde die zeitgebundene letale Dose

(Infusion nach Hatcher-Magnus) bestimmt. Eine Digitoxinlösung 1 : 50000 wurde langsam in der bekannten Weise in die Vena femoralis infundiert. In Tabelle 1 geben wir unsere Ergebnisse wieder.

Tabelle 1. Bestimmung der letalen Digitoxindose (Infusion nach Hatcher-Magnus) nach Vorbehandlung mit einmaligen Thyroxindosen.

Nr.	Thyroxin mg/kg	Vorbehandlungszeit Tage	Letale Infusion: Ausgangsgewicht (g)	Letale Infusion: Endgewicht	Gewichtsverlust bei Prüfung der Empfindlichkeit in %	Klinische Erscheinungen bei Prüfung	Anatomische Veränderungen
1	4,5	15	0,179 (2200)	0,236 (1500)	32	beginnende Erholung	+
2	4,5	28	0,318 (2700)	0,332 (2290)	15	schlapp	++
3	3,0	15	0,395 (2660)	0,438 (2400)	9	munter	+
4	2,8	15	0,421 (1770)	0,429 (1640)	7	munter	—

Letale Durchschnittsdose für normale Tiere = 0,309 mg/kg Digitoxin.

Eine immer wieder auftauchende Frage bei letalen Infusionen (die im Anschluß an schon länger dauernde Versuche gemacht werden) ist die, auf welches Gewicht die letale Dosis berechnet werden soll, auf das Anfangs- oder das Endgewicht? Unsere Ergebnisse sind bei den einmaligen Dosen klar zu trennen, so daß diese Frage hier kein Kopfzerbrechen bereitet, aber bei den weiter unten aufgeführten Versuchen mit wiederholten Dosen sind die Werte nicht so eindeutig, daß man von hoher oder niedriger letaler Dosis sprechen und damit zwischen empfindlichen und weniger empfindlichen Tieren unterscheiden könnte. Wenn wir auch in erster Linie den Herzzustand prüfen wollen, so könnte vielleicht der Gewichtsunterschied unberücksichtigt bleiben, oder das Mittel zwischen Anfangs- und Endgewicht gewählt werden. Man kann auch der Meinung sein, daß bei einer so schweren Allgemeinvergiftung wie der Thyroxinvergiftung der schlechte Allgemeinzustand erheblich mitberücksichtigt werden muß. Die stärkste Ausdrucksform hierfür ist aber die Gewichtsabnahme, und dabei zeigt sich auch im allgemeinen noch, daß gerade die Stärke der Gewichtsabnahme ungefähr parallel der verminderten Resistenz geht. Danach sollte man eigentlich auf das Endgewicht berechnen. Wir haben es vorgezogen, die Berechnungen für beide Gewichte anzugeben.

Was entnehmen wir nun aus der Tabelle 1? Wir können neben einer Verminderung der Resistenz (Nr. 1) auch eine Erhöhung (Nr. 3 und 4) feststellen. Bei dem empfindlichen Tier (Nr. 1) war neben der stärkeren Gewichtsabnahme auch ein schlechterer Allgemeinzustand festzustellen (Gewichtsverlust 32%). Nr. 2 zeigt normale Werte.

b) Nach wiederholten Thyroxindosen.

Die Giftwirkung wiederholter Dosen ist ungleich stärker als die von einmaligen Dosen. Jedoch zeigt es sich, daß selbst mehrfach gegebene höhere Teildosen (1–8mal) keine Veränderung der Digitalisempfindlichkeit bewirkten, wenn die Empfindlichkeit sofort oder nur wenige Tage nach Absetzung des Thyroxins geprüft wurde (Tabelle 2, Nr. 5, 6, 7, 8).

Tabelle 2. Bestimmung der letalen Digitoxindose nach Vorbehandlung mit wiederholten Thyroxindosen (letale Infusion nach Hatcher-Magnus).

Nr.	Thyroxin-dose	Gesamt-menge Thyroxin	Vor-behand-lungs-zeit	Pause zwischen letzter Thyroxin-Injektion und letaler Infusion	Letale Infusion		Gewichts-verlust bei letaler Infusion in %	Besondere klinische Erschei-nungen bei Beginn der Infusion
					Anfangs-gewicht (g)	End-gewicht (g)		
	mg/kg	mg/kg	Tage	Tage				
5	7 × 1,0	7,0	15	3	0,268 (1380)	0,356 (1060)	23	munter
6	7 × 1,0	7,0	15	3	0,306 (2300)	0,320 (2100)	9	munter
7	7 × 0,5	3,5	11	2	0,261 (2750)	0,377 (2200)	20	schreck-haft
8	10 × 0,5	5,0	11	1	0,277 (3330)	0,347 (2600)	22	schreck-haft

Im Gegensatz dazu konnte schon bei kleinen wiederholten Dosen Thyroxin mit viel geringerer Gesamtmenge eine erhöhte Toxizität festgestellt werden, wenn nach Absetzen der Thyroxininjektion eine längere Pause lag (Tabelle 4, Nr. 15). Als üblichen zeitlichen Dosenabstand wählten wir einen Tag. Aus äußeren Gründen war derselbe aber nicht immer genau einzuhalten, wir geben deshalb in Tabelle 2 neben der Gesamtversuchsdauer noch die Thyroxinvorbehandlungszeit an und die Pause zwischen letzter Thyroxininjektion und Prüfung der Glykosidempfindlichkeit. Damit eine deutliche Wirkung eintrat, mußte der betreffende Organismus mindestens 8 Tage unter Thyroxin stehen, d. h. es konnte unter Umständen eine Dosis genügen, es mußten nur 8 Tage vom Beginn der Injektion dazwischenliegen, damit sich die gegebene Thyroxinmenge auswirken konnte.

Bei einem Teil der Tiere wurde nicht die letale Digitoxindosis, sondern die letale Strophanthindosis bestimmt. Außerdem gaben wir in einigen Fällen höhere Zwischendosen von Digitoxin und prüften auch einige Tiere mit wiederholten kleinen Digitoxindosen (als i. v. Injektion). Die höheren (subletalen) Zwischendosen von Digitoxin (langsame Infusion) wurden in einigen Fällen nach kleineren wiederholten Vorbehandlungsdosen von Thyroxin gegeben (s. Tabelle 3 und 4). Da es sich bei den subletalen Zwischendosen um Infusionen handelte, war dies gewissermaßen eine Zwischenprüfung der Digitalisempfindlichkeit und so konnte auch, da

Tabelle 3. Prüfung der Digitalisempfindlichkeit nach Thyroxinvorbehandlung durch Zwischendosen von Digitoxin und anschließender letaler Strophanthininfusion (Digitoxin).

Nr.	Thyroxindose mg/kg	Gesamtmenge Thyroxin mg/kg	Thyroxineinwirkungszeit Tage	Zwischendose Digitoxin mg/kg	Nach Tagen	Letale Infusion A (g)	Letale Infusion E (g)	Gewichtsverlust in %	Gesamtversuchsdauer Tage
9	4 × 0,4	1,6	9	0,14	9	0,0552 (3000)	0,0801 (2070)	31	24
10	1 × 0,8 1 × 0,2 2 × 0,5	2,0	9	0,17	9	0,0748 (2350)	0,0842 (2090)	11	24
11	3 × 0,5	1,5	4	0,17	4	0,231 (1920)	0,245 (1900)	0	19

Nr. 9 und 10 Dosenabstand 2 Tage. Nr. 11 Dosenabstand 1 Tag (letale Digitoxininfusion). Letale Strophanthindose für normale Tiere 0,079 mg/kg g Strophanthin. A = Anfangsgewicht, E = Endgewicht.

es sich ja um relativ hohe Dosen handelte, eine Toxizitätsverminderung gut festgestellt werden. Die letale Infusion erfolgte dann bei diesen Tieren zu einem späteren Zeitpunkt, in welchem nach diesen Zwischendosen keine Digitaliswirkung mehr erwartet werden konnte, wohl aber noch Thyroxinnachwirkung.

Überblicken wir die in Tabelle 1, 2, 3 und 4 zusammengestellten Ergebnisse, so zeigen sich insbesondere bei den letalen Infusionen eigentlich nur bei den mit einmaligen höheren Thyroxindosen vorbereiteten Tieren eindeutige Unterschiede der Empfindlichkeit. Wir sehen dabei bei Nr. 1 eine deutliche Verminderung, bei Nr. 3 und 4 eine Erhöhung der Toxizität.

Tabelle 4. Prüfung der Digitalisempfindlichkeit nach Thyroxinvorbehandlung mit großen einmaligen und kleinen wiederholten Digitoxindosen.

Nr.	Thyroxindose mg/kg	Gesamtmenge Thyroxin mg/kg	Thyroxineinwirkungszeit Tage	Gewichtsverlust in % am Ende der Vorbehandlungszeit mit Thyroxin	Testdose Digitoxin mg/kg	Prüfungsergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht bei Tod g	Gesamtversuchsdauer Tage
12	3 × 1,0	3,0	5	4	0,17	nach 8 Tagen gestorben	3000	2400	13
13	6 × 0,8	4,8	10	18	0,17	nach 5 Std. gestorben	2310	1890	10
14	8 × 1,0	8,0	21	35	3 × 0,05	nach 3. Dose gestorben	2000	1170	25
15	12 × 0,25	3,0	23	28	3 × 0,05	nach 3. Dose gestorben	2220	1360	27,5

Dosenabstand für Thyroxin und Digitoxin 1 Tag. Große Dosen Digitoxin als Infusion, kleine Dosen intravenös gegeben.

Tabelle 5. Beziehungen zwischen Gewichtsabnahme durch die Vorbehandlung mit Thyroxin und Digitalisempfindlichkeit.

Nr.	Thyroxindose mg/kg	Gesamtmenge Thyroxin mg/kg	Thyroxineinwirkungszeit Tage	Gewichtsabnahme in %	Empfindlichkeitsprüfung, Infusion A mg/kg	Empfindlichkeitsprüfung, Infusion E mg/kg	Toxizität erhöht	Toxizität vermindert	Besonderes
1	4,5	4,5	15	32	0,179	0,236	!		Digitoxin
2	4,5	4,5	28	15	0,318	0,332	0	0	„
3	3,0	3,0	15	9	0,395	0,438		!	„
4	2,8	2,8	15	7	0,421	0,454		!	„
5	7 × 1,0	7,0	15	23	0,268	0,356	0	0	„
6	7 × 1,0	7,0	15	9	0,306	0,320	0	0	„
7	7 × 0,5	3,5	11	20	0,261	0,377	0	0	„
8	10 × 0,5	5,0	11	22	0,277	0,347	0	0	„
9	4 × 0,4	1,6	9	31	0,0552	0,0801	!		Strophantin Zwischendose-Digitoxin s. Tabelle 3
10	1 × 0,8 1 × 0,2 3 × 0,5	2,5	9	11	0,0748	0,0842	!		Zwischendose-Digitoxin s. Tabelle 3
11	3 × 0,5	1,5	4	0	0,231	0,245	0	0	Digitoxin
12	3 × 1,0	3,0	5	?	Digitoxin	0,17	0	0	nach 8 Tagen gestorben
13	6 × 0,8	4,8	10	18	„	0,17	?	?	nach 5 Std. gestorben
14	8 × 1,0	8,0	21	35	3 × 0,05	Digitoxin	!		nach 3. Dose gestorben
15	12 × 0,25	3,0	23	28	3 × 0,05	„	!		nach 3. Dose gestorben

! = Toxizität erhöht oder vermindert; 0 = kein eindeutiges Resultat; A = auf Anfangsgewicht berechnet; E = auf Endgewicht berechnet.

Bei Nr. 2 aber (Versuch mit einer der höchsten Thyroxindosen) finden wir eine normale letale Dosis. Bei diesem Tier ist anzunehmen, daß die Pause von 4 Wochen nach der Thyroxininjektion schon wieder zu einer weitgehenden Erholung des Herzens geführt hat (Gewichtsabnahme noch 15% des Ausgangsgewichtes). Klinisch war das Tier bei der Prüfung noch geschwächt. Nach etwa 4 Tagen trat im EKG. ein negatives T. über 6 Tage lang auf; morphologisch fanden sich später im Herzmuskel Herde, in deren Bereich die Herzmuskelfasern durch Rundzellen und Fibroblasten auseinandergedrängt sind (Abb. 2; s. auch später). Sehr beachtenswert ist auch noch der Versuch Nr. 3. Dieses Tier zeigte eine deutliche Resistenzerhöhung, und trotzdem wurden im Herzmuskel histologisch Veränderungen gefunden. In diesen beiden Fällen scheint also demnach die Myocardschädigung und auch die allgemeine Vergiftung, soweit man durch diese eine Toxizitätserhöhung annehmen konnte, schon zurückgegangen zu sein. Die Prüfung nach wiederholten Thyroxindosen ist bei den letalen Infusionen nicht überzeugend. Das zeigt sich auch besonders, wenn wir Tabelle 5 betrachten (Nr. 5–8). Trotz verhältnismäßig hoher Gewichts-

abnahme entsprechen die letalen Dosen praktisch normalen Werten. Versuch Nr. 9 könnte auf Grund der nach 9 Tagen vertragenen Zwischendosis von 0,14 mg/kg Digitoxin als normal reagierend betrachtet werden. Die Prüfung durch die letale Infusion 14 Tage später (nach der Zwischendosis) ergibt eine Resistenzverminderung, die auf die Thyroxinwirkung zurückzuführen sein müßte, denn 0,14 mg/kg Digitoxin als Vordose gegeben ergibt nach 14 Tagen praktisch immer eine 100%ige Auffülldosis von Strophanthin.

Auf die Versuche Nr. 14 und 15 möchten wir besonders hinweisen. Es handelt sich hier um Empfindlichkeitsprüfungen mit wiederholten kleinen intravenösen Digitoxindosen. Selbst unter Berücksichtigung der starken Gewichtsabnahme bei beiden Versuchen zeigt diese Prüfungsart mit großer Sicherheit und eindrucksvoll den augenblicklichen Zustand des Herzmuskels bzw. des Organismus an. Wir geben nachfolgend ein EKG. von Nr. 15 wieder (Abb. 1). Diese Stromkurven zeigen, wie durch die kleine einmalige Dosis schon eine ausgeprägte Digitaliswirkung zustande

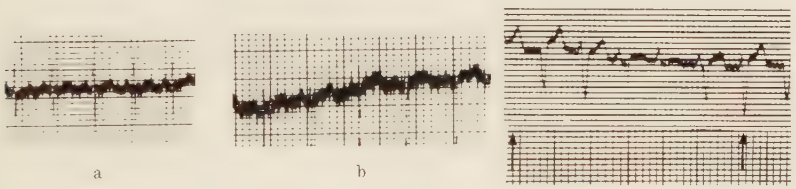


Abb. 1. Versuch Nr. 14. 8 × 1,0 Thyroxin (Dosenabstand 1 Tag) Ableitung II.
a) Ausgangs-EKG. b) 13 Tage nach letzter Thyroxininjektion wie Ausgangs-EKG.
c) 1 Stunde nach der 1. Dose 0,05 mg kg Digitoxin: Stärkste Digitaliswirkung.

kommt. Der Vorteil dieser Prüfungsart liegt ohne Zweifel darin, daß durch die Auswirkung dieser kleinen Dosis der tatsächliche Zustand des Organismus besser gespiegelt wird als durch eine letale Infusion mit ihrem konzentrierten Giftangebot und der zeitlich beschränkten Abwehrmöglichkeit. Aus Tabelle 5 ist ersichtlich, daß bei einer stärkeren Gewichtsabnahme, die ja einer stärkeren Thyroxinwirkung entspricht, die Neigung zur Resistenzverminderung überwiegt.

3. Die morphologischen Veränderungen im Herzmuskel.

Es hat wohl als erster Fahr darauf hingewiesen, daß bei der Basedowschen Krankheit beim Menschen im Herzmuskel morphologische Veränderungen auftreten können. Er hat dann an einer Reihe von Fällen nachgewiesen, daß es zu degenerativen Veränderungen der Herzmuskelfasern mit Rundzelleninfiltration und Fibroblastenwucherungen kommen kann. Diese Befunde konnte Baust an einer größeren Reihe von untersuchten Menschenherzen nicht bestätigen. Boyksen hat daraufhin erneut eine Anzahl von Herzen nach Basedowscher Krankheit untersucht und konnte

dabei feststellen, daß bei 25 Fällen von Morbus Basedow in 23 Fällen morphologische Veränderungen im Herzmuskel nachweisbar waren. Die Veränderungen bestanden auch hier in Muskeldegenerationen, sogar in Nekrosen und Schwielen.

Dieses Problem wurde zum Anlaß einer Reihe von Tierexperimenten, doch sind auch hier die Ergebnisse keineswegs einheitlich. Wir dürfen auf eine eingehende Wiedergabe des Schrifttums verzichten und auf die Arbeiten von v. Zalka und Zeus verweisen, in denen das einschlägige Schrifttum ausführlich zusammengestellt ist. Die Untersuchungen wurden an Katzen, Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten angestellt. Die einzelnen Autoren fanden degenerative Veränderungen der Herzmuskelfasern, ferner Herzmuskelnekrosen, schließlich interstitielle Myocarditiden (Farrant; Hashimoto; Henne, Keane, Henry and Jones; Heinlein und Dieckhoff; v. Zalka; Boyksen; Zeus). Andere fanden im Herzmuskel nur Veränderungen, wenn auch eine Pneumonie nachweisbar war (Rake und Mc Eachern) oder wenn zu der Thyroxinverabreichung noch eine zusätzliche Schädigung, wie z. B. eine Chloroformnarkose, hinzukam (Goodpasture). Heinlein und Dieckhoff fanden außer den schon angeführten Veränderungen Verquellung der Gefäßwand mittelgroßer Coronargefäße. Sie weisen darauf hin, daß die degenerativen Veränderungen der Muskelfasern und deren scholliger Zerfall durch diese Lumeneinengung der Coronargefäße hervorgerufen werden könnten.

Wir untersuchten die Herzen von 25 Katzen nach subcutaner bzw. intravenöser Injektion von Thyroxin*. Bei einem Teil dieser Tiere wurde dann die Digitalisempfindlichkeit geprüft.

Die Herzen der Versuchstiere wurden in Paraffin eingebettet und von jedem Herzen aus der Vorder- und Hinterwand beider Ventrikel je 20 Schnitte angefertigt. Die Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin und teilweise nach van Gison gefärbt.

Die histologische Untersuchung ergab, daß bei den Tieren, die innerhalb der ersten 8 Tage nach der ersten Thyroxininjektion zur Sektion kamen, keine Veränderungen gefunden wurden. Bei den Tieren, die länger als 8 Tage im Versuch waren, also mindestens 8 Tage unter Thyroxinwirkung standen, zeigten sich in 75% der Fälle morphologische Veränderungen. Diese bestanden vorwiegend in kleineren und größeren Herden von Fibroblasten und Rundzellen mit Auseinanderdrängung der Herzmuskelfasern (s. Abb. 2). Akute Nekrosen mit Zerfall von Muskelfasern und Ansammlung von Leukocyten fanden wir nur in einem Falle. Die beschriebenen Herde saßen vorwiegend im Bereich des linken Ventrikels, und zwar in der Gegend der Papillarmuskeln. Vereinzelt fanden wir die

* Die Anfertigung der histologischen Präparate von 5 Katzenherzen verdanke ich Herrn Dr. Gentzsch, Path. Inst. Freiburg.

Herde auch im rechten Ventrikel und in einem Falle waren die Herde diffus über beide Ventrikel verteilt. Gefäßveränderungen in so ausgeprägtem

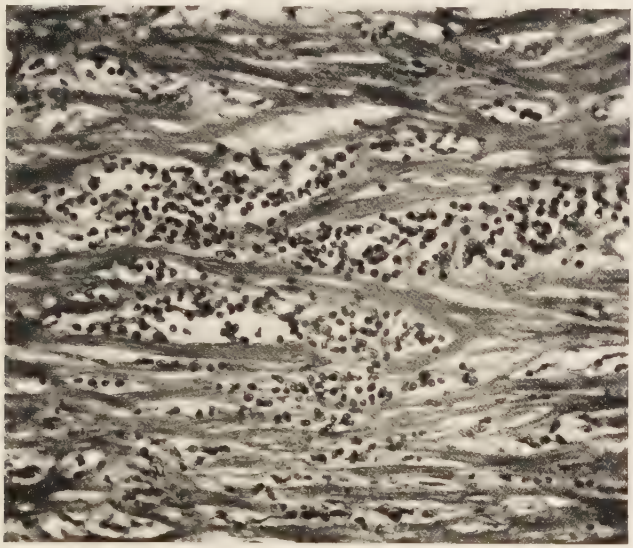


Abb. 2.
Herz Nr. 2. Einmalige Thyroxindosis von 4,5 mg/kg. Tod nach 28 Tagen. Man sieht deutliche Herde, in deren Bereich die Herzmuskelfasern durch Fibroblasten und Rundzellen auseinandergedrängt sind.

Maße wie sie Heinlein und Dieckhoff gefunden haben, konnten wir auch bei den Tieren, die 3 Monate im Versuch standen (6 Tiere), nicht feststellen*.

Schlußbetrachtung.

Die von uns angestellten Untersuchungen zur Prüfung der Digitalisempfindlichkeit des Herzens nach Vorbehandlung mit Thyroxin sind mit verhältnismäßig hohen Thyroxindosen mg kg (auch die kleinen Dosen sind noch hoch) ausgeführt worden. Wir wählten die Dosen so hoch, da es uns nicht darauf ankam, die Digitalisempfindlichkeit bei geringer Thyroxinwirkung zu prüfen, sondern wir wollten morphologische Herzschädigungen setzen. Hierbei waren höhere Dosen auch insofern als günstiger zu betrachten, da sie auf Grund ihrer raschen Giftwirkung eine direkte Beeinflussung des Herzens wahrscheinlicher machten als die kleinen. Es hat sich aber gezeigt, daß die Thyroxinauswirkung innerhalb einer großen Dosenbreite starken individuellen Schwankungen unterworfen ist. Wir finden wohl in einzelnen Fällen eine Erhöhung und auch eine Ver-

* Die Durchsicht der Präparate übernahm in dankenswerter Weise Herr Prof. Büchner, der es mir auch ermöglichte, an seinem Institut die histologischen Untersuchungen anzustellen.

minderung der Toxizität. Dabei zeigten sich zur Schwere der Thyroxinvergiftung (Gewichtsabnahme) gewisse Beziehungen. In vielen Fällen aber ist das Ergebnis trotz starker Thyroxinwirkung nicht befriedigend. Wir glauben, daß der Grund hierfür in der Art der Prüfung zu suchen ist (letale Infusion), denn bei der Prüfung durch wiederholte kleine Digitalisdosen zeigte sich viel besser, wie erheblich das Herz durch die Vorbehandlung mit Thyroxin beeinflußt sein kann. Das konzentrierte Giftangebot einer letalen Infusion mit zeitlich beschränkter Abwehrmöglichkeit des Organismus ist für diese Prüfung deshalb nicht zu empfehlen. Bringen wir unsere Ergebnisse in Beziehung zu den morphologischen Veränderungen im Herzmuskel, so müssen wir feststellen, daß sowohl bei empfindlichen wie auch bei weniger empfindlichen Tieren morphologische Veränderungen gefunden wurden, und andererseits selbst bei Tieren mit erhöhter Digitalistoxizität der Herzmuskel frei von morphologischen Veränderungen war. Wir können daraus den Schluß ziehen, daß die morphologischen Veränderungen, die durch Thyroxin am Herzmuskel verursacht werden, eine Begleiterscheinung des allgemein schweren Vergiftungszustandes nach Thyroxin sind. Die Resistenzverminderung scheint demnach mehr durch die toxische Allgemeinwirkung dieser Schilddrüsensubstanz auf den Organismus, als in einer besonderen Wirkung auf das Herz begründet zu sein, d. h. die nachweisbaren morphologischen Veränderungen am Herzmuskel durch Thyroxin sind nur bedingt ein Ausdruck besonderer Empfindlichkeit gegen Digitalis. Die Resistenzerhöhung kann vielleicht mit einer rascheren Entgiftung durch verstärkte Verbrennung erklärt werden.

Zusammenfassung.

1. Zur Untersuchung der Digitalisempfindlichkeit myocardgeschädigter Herzen wurde eine Serie von Katzen mit Thyroxin vorbehandelt.

2. Entsprechend der eigenartigen Wirkung des Thyroxins (Latenzzeit) ist sowohl bei einmaligen wie auch wiederholten Dosen eine längere Auswirkungszeit erforderlich, bis klinische (4–6 Tage) oder morphologische Veränderungen (8 Tage) nachweisbar sind.

3. Prüfungen der Digitalisempfindlichkeit des Herzens vor dem 8. Tage nach einer Thyroxininjektion zeigten gegenüber normalen Tieren wenig Unterschied. Bei Prüfungen nach mehr als 8 Tagen Vorbehandlungszeit wurde nach kleineren Dosen eine Neigung zur Resistenzerhöhung gefunden, während größere Thyroxindosen eine Resistenzverminderung bedingen können.

4. Bestimmung der Digitalisempfindlichkeit mit letalen Infusionen befriedigt nicht, da die Ergebnisse nicht eindeutig sind und oft im Widerspruch zum klinischen Befund stehen. Wiederholte kleine Digitalisdosen dagegen zeigen besonders bei EKG.-Kontrolle eine bestehende Empfindlichkeit sicher an.

5. Die histologisch nachgewiesenen Veränderungen nach Thyroxin gehen nicht parallel mit der Empfindlichkeit gegen Digitalisglykoside.

6. Diese histologischen Befunde im Herzmuskel nach Thyroxinvorbehandlung bestanden in einem Falle in akuten Herzmuskelnekrosen, in den übrigen Fällen in Ansammlungen von Fibroplasten und Rundzellen mit Auseinanderdrängung der Herzmuskelfasern.

Literatur.

1) Bauer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**. — 2) Bauer u. Reindell, Ebenda **190**. — 3) Baust: Zieglers Beiträge **86**. — 4) Boyksen: Virchows Arch. **293**. — 5) Braun: Z. exper. Med. **68**, 106. — 6) Dieckhoff: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**. — 7) Fahr: Zentralbl. f. Pathol. **27** (1916). — 8) Fahr: Dtsch. med. Wschr. **1920**, S. 1187. — 9) Fahr: Zentralbl. f. Pathol. **32** (1921). — 10) Fahr u. Kuhle: Virchows Arch. **233**. — 11) Farrant: Brit. med. J. **2**, 1363. — 12) Goodpasture: J. exper. Med. (Am.) **34**. — 13) Hahn u. Rosenblum: Amer. Heart. J. **8**. — 14) Hashimoto: Endocrinology **5**. — 15) Heinlein u. Dieckhoff: Virchows Arch. **297**. — 16) Heubner u. Hecht: Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl. **1926**. — 17) Intyre, Mc: J. Pharmacol. (Am.) **33**. — 18) König: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **134**. — 19) Lendle: Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk I. — 20) Menne, Keane, Henry u. Jones: Amer. Heart. J. **8**, 75. — 21) Menne, Keane, Henry u. Jones: Arch. Path. (Am.) **17**. — 22) Rake u. Mac Eachern: Amer. Heart. J. **8**. — 23) Segre u. Cantoni: Cuore **16**, N. 8. — 24) Stoye: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **156**. — 25) Takane: Virchows Arch. **259**. — 26) Zalka, v.: Zieglers Beiträge z. Path. Anat. **95**. — 26) Zeus: Arch. Kreisl.forsch. **2**, 165.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs, Ungarn.

Trennung von Azetylcholin und Kalium in Flüssigkeiten und Gewebsauszügen.

Von

Anna Lánczos.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. August 1940.)

Die bedeutsame physiologische Rolle des Azetylcholins, die durch Arbeiten der letzten zwei Jahrzehnte aufgedeckt wurde, machte es notwendig, eine geeignete Methode zu seiner quantitativen Bestimmung zu finden. Das Straubsche Froschherz, an dem Otto Loewi seine klassischen Vagusversuche ausführte, erwies sich zwar als besonders einfaches und empfindliches Testobjekt, aber eignete sich wegen Mangel der Spezifität nicht zur quantitativen Auswertung. Die weniger einfachen Nachweisverfahren am Kaninchen- und Mäusedarm oder am Blutdruck der enthirnten Katze erwiesen sich auch nicht spezifisch, und so war es als Fortschritt zu begrüßen, als Minz (1) 1932 die von Führer (2) entdeckte Wirkung des Azetylcholins auf den eserinbehandelten Blutegelmuskel verwertend, diesen für die quantitative Bestimmung vorschlug.

Der eserinisierte Blutegelmuskel, ebenso wie der von Chang und Gaddum (3) seit 1933 zum selben Zweck verwendete Musculus rectus des Frosches reagieren sehr empfindlich und auch weitgehend spezifisch auf Azetylcholin. Allerdings mußte die ursprüngliche Annahme von Minz (1), daß der Blutegelmuskel von den körpereigenen Stoffen ausschließlich gegenüber Cholin und Azetylcholin empfindlich ist, alsbald dahin ergänzt werden, daß auch das Kalium eine Zusammenziehung dieses Muskels sowie auch des Froschrectus hervorruft.

Kalium ist aber in allen Körperflüssigkeiten und Gewebsauszügen zugegen und kommt somit bei den Azetylcholinbestimmungen am Blutegel und Froschrectus stets als störender Faktor in Betracht. Chang und Gaddum (3) geben zwar an, daß Kalium eine Erschlaffung des Blutegelmuskels hervorruft und somit der Azetylcholinkontraktur entgegenwirkt, so daß eine Zusammenziehung dieses Muskels stets das Vorhandensein von Azetylcholin anzeigen sollte. Abgesehen davon, daß auch eine Gegenwirkung bei der quantitativen Bestimmung sich störend bemerkbar macht, trifft die obige Angabe nur für Kaliumkonzentrationen bis 0,5 mg je ccm zu, während höhere Konzentrationen, wie sie bei Gewebsauszügen sehr wohl in Frage kommen können, schon kontrahierend auf den Blutegel-

muskel wirken, also nicht nur die Azetylcholinwirkung verstärken, sondern eine solche auch vortäuschen können.

Haben wir es nun mit besonders azetylcholinempfindlichen Muskeln zu tun, so kann die Kaliumwirkung durch starke Verdünnung der zu prüfenden Flüssigkeit ausgeschaltet werden, dies ist aber bei weniger empfindlichen Muskeln, wie wir sie besonders in der heißen Jahreszeit oft zu Händen bekommen, ebenso wie bei sehr geringem Azetylcholingehalt der zu bestimmenden Flüssigkeit nicht möglich. Nachdem Atropin am Blutegelmuskel die Azetylcholinwirkung nicht beeinflußt, blieb zur Ausschließung einer Kaliumwirkung nur der indirekte Weg der Veraschung übrig, wobei nur die Azetylcholinwirkung, nicht aber die des Kaliums erlischt, was wohl dazu geeignet ist zu entscheiden, ob es sich bei der Zusammenziehung des Blutegels oder Froschrectus um eine Azetylcholin- oder Kaliumwirkung handelt, aber unentschieden läßt, in welchem Maße das Kalium an der Zusammenziehung beteiligt war. Daraus ergibt sich eine Schwierigkeit, welche die quantitative Ermittlung des Azetylcholingehaltes von Organen sehr erschwert, wie dies z. B. für den Azetylcholingehalt des Blutes auch von Gollwitzer-Meier (4), ferner von Ammon und Dirscherl (5) betont wurde. Dies bedeutet aber eine Fehlerquelle der Bestimmungen, die für manche Unstimmigkeit in den Angaben verschiedener Autoren über den Azetylcholingehalt der Gewebe verantwortlich sein dürfte.

Es würde also eine Verbesserung der Methodik bedeuten, wenn ein Weg gefunden werden könnte, den störenden Einfluß des Kaliums auszuschalten. Dieses Ziel versuchte ich, einem freundlichen Rat von Herrn Prof. L. Michaelis, New York, folgend, durch Behandlung der Gewebsauszüge mit Natriumpermutit zu erreichen.

Permutite oder künstliche Zeolithe sind bekanntlich Schmelzen von Tonerdesilikaten mit Soda von verschiedener Zusammensetzung, wie $2\,SiO_2 \cdot Al_2O_3 \cdot Na_2O + 6\,H_2O$ oder $5\,SiO_2 \cdot Al_2O_3 \cdot Na_2O + 5\,H_2O$, die ihren basischen Bestandteil, das Natrium, leicht mit anderen Basen wie Calcium, Magnesium, Eisen oder Kalium austauschen und so als Basenauswechsler zum Enthärten von Trinkwasser dienen. Durch nachträgliche Behandlung mit Kochsalzlösung werden die aufgenommenen Metalle wieder durch Natrium ersetzt und so der Permutit für erneute Filtrationen regeneriert.

Über unsere Versuche, welche die Brauchbarkeit des Permutits zur Entfernung von Kalium aus Organauszügen zeigen, soll im folgenden berichtet werden.

Versuche und Versuchsergebnisse.

Um die Brauchbarkeit des Permutits zur Entfernung des Kaliums zu erfahren, mußte zunächst entschieden werden, ob er einerseits geeignet ist, dieses Element quantitativ zu entfernen, andererseits, ob dabei das

Azetylcholin unvermindert in Lösung bleibt. Um dies zu prüfen, untersuchten wir wässerige Lösungen von reinem Kaliumchlorid, von Azetylcholin, dann Mischungen der beiden, sowie Gewebsauszüge vor und nach Permutitbehandlung am Blutegelmuskel- und Froschrectuspräparat. Zur Herstellung von Gewebsextrakten verwendeten wir destilliertes Wasser, weil größere Mengen von Kochsalz den K-Na-Austausch, wie schon erwähnt, reversibel beeinflussen.

Die Gewebe wurden in eserinisiertem destilliertem Wasser zerrieben und die Flüssigkeiten, wie später näher begründet wird, mit verdünnter Essigsäure auf p_H 5,0 gebracht. Die eine Hälfte (4–6 ccm) des sauren Gewebsauszuges wurde 5 Minuten lang mit Natriumpermutit geschüttelt, filtriert, der Permutit mit destilliertem Wasser nachgewaschen, das Filtrat in Vakuum bei 45° getrocknet und der Rückstand in 0,2 ccm Ringer aufgenommen. Die andere Hälfte wurde ohne Permutitbehandlung ebenfalls im Vakuum getrocknet und in gleicher Menge Ringerlösung gelöst. Die

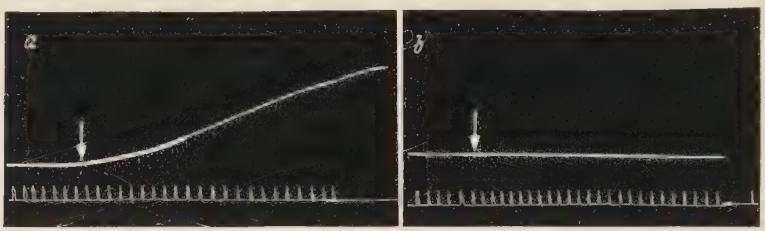


Abb. 1.

a = Wirkung von 3 mg KCl. *b* = Wirkung von 3 mg KCl nach Permutitbehandlung.

beiden so gewonnenen Lösungen wurden am eserinisierten Blutegelmuskel bzw. Froschrectus ausgewertet. Die Versuche haben wir in den Monaten Februar—Mai 1939 ausgeführt.

Zunächst mußte festgestellt werden, ob es möglich ist, Kalium aus wässeriger Lösung von ähnlicher Konzentration, wie es in Geweben vorhanden ist, durch Permutit zu entfernen. Zu diesem Zweck verdünnten wir 0,5–1 ccm einer Kaliumchloridlösung, die je ccm 6 mg KCl, also etwa die in 1 g Muskel vorhandene Kaliumchloridmenge enthielt, mit 3 ccm Wasser und schüttelten 5 Minuten lang mit 1 g Permutit. Abb. 1 zeigt die Wirkung des eingeengten Filtrats und derselben Menge der unbehandelten Lösung, die am selben Blutegelmuskel vergleichend geprüft wurden. Während die nicht mit Permutit behandelte Kaliumchloridlösung eine starke Zusammenziehung des Muskels hervorruft, fehlt nach Zusatz derselben Menge nach Permutitbehandlung jede Kontraktion und der Schreiber zeichnet eine horizontale Linie. Die Entfernung des Kaliums aus der Lösung konnte auch durch die qualitativ-chemische Probe mittels Natriumkobaltnitrit erwiesen werden, indem die 3–6 mg enthaltende

Kaliumchloridlösung eine starke Fällung mit diesem Reagens ergab, welche bei Zusatz des Reagens zur mit Permutit behandelten Lösung fehlte.

Nachdem es sich so ergab, daß Kalium aus einer Lösung durch Permutit entfernt werden kann, mußten wir uns davon überzeugen, ob die Azetylcholinwirkung selbst vom Permutit unbeeinflußt bleibt. Permutit gibt, wie erwähnt, bei Berührung mit anderen Kationen seinen basischen Be-

Abb. 2.

a = Wirkung von 1 γ Azetylcholin. *b* = Wirkung von 1 γ Azetylcholin nach Permutitbehandlung.

standteil ab, die Base könnte aber das alkaliempfindliche Azetylcholin zerstören. Wird jedoch die Lösung mit verdünnter Essigsäure auf p_H 5,0 gebracht, so kann die Alkaliwirkung kompensiert werden, so daß die Azetylcholinwirkung beim Schütteln mit Permutit nicht abgeschwächt wird.

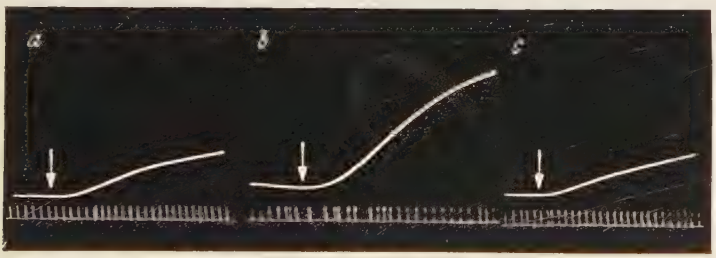


Abb. 3.

a = Wirkung von 1 γ Azetylcholin. *b* = Wirkung von 1 γ Azetylcholin + 5 mg K Cl *c* = Wirkung von 1 γ Azetylcholin + 5 mg K Cl nach Permutitbehandlung.

Dieses Verhalten wird durch die Abb. 2 illustriert, welche die unveränderte Wirkung einer Azetylcholinlösung nach Permutitbehandlung zeigt.

Des weiteren wurde geprüft, wie die Permutitbehandlung Mischungen von Kalium und Azetylcholin beeinflußt. Abb. 3 zeigt das Ergebnis eines Versuches, in welchem am selben Blutegelmuskel die Wirkung einer Azetylcholinlösung, ferner die Wirkung derselben Azetylcholinmenge unter Kaliumchloridzusatz und schließlich die Wirkung dieser Mischung nach Permutitbehandlung untersucht wurde. Wie aus der Abbildung ersichtlich ist, ergab sich nach Zugabe von Kalium eine starke Addition in der Kon-

traktionswirkung, nach Permutitbehandlung wurde jedoch die Zusammenziehung, die von der Mischung hervorgerufen wurde, auf die Größe der von Azetylcholin allein verursachten reduziert, woraus hervorgeht, daß das Kalium auch aus Azetylcholin-Kaliummischungen entfernt werden kann.

Nachdem wir uns durch die geschilderten Versuche überzeugt hatten, daß Kalium aus reinen wässerigen Lösungen durch Permutit entfernt werden kann, gingen wir auf zusammengesetztere Systeme über und untersuchten, ob die in den Organen vorkommenden Salze die Permutitwirkung nicht etwa störend beeinflussen. Zu diesem Zweck haben wir 1 g Muskelsubstanz verascht, der Asche Azetylcholin hinzugefügt und diese Mischung mit Permutit geschüttelt. Es zeigte sich, wie aus Abb. 4 hervor-

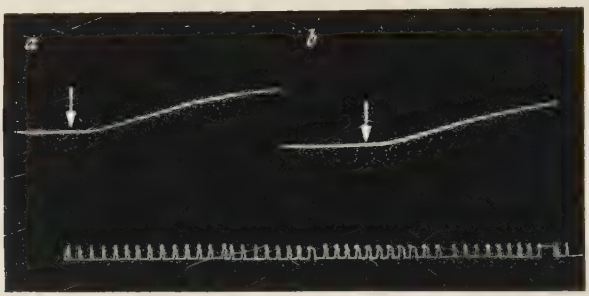


Abb. 4.
a = Wirkung von 1 γ Azetylcholin. *b* = Wirkung von 1 γ Azetylcholin mit Zusatz von Muskelasche nach Permutitbehandlung.

geht, daß die Wirkung der Mischung von Muskelasche und Azetylcholin nach Permutitbehandlung gleich stark war wie die des zugefügten Azetylcholins für sich allein. Es muß also angenommen werden, daß auch aus der veraschten Muskelsubstanz das Kalium durch Permutit entfernt wurde, sonst würde ja eine größere Zuckung durch Addition der Kaliumwirkung zu jener des Azetylcholins entstanden sein, woraus folgt, daß auch die im Muskel vorhandenen anderen Ionen die Permutitwirkung nicht stören und somit das Kalium durch Permutit nicht nur aus reinen wässerigen Lösungen, sondern auch aus komplizierteren Systemen entfernt werden kann.

Auf Grund unserer Ergebnisse, die mit Mischungen von Kalium und Azetylcholin erhalten und oben geschildert wurden, war zu erwarten, daß die Auszüge von Geweben, die neben Azetylcholin auch Kalium enthalten, nach der Permutitbehandlung am Blutegelpräparat geringere Wirksamkeit zeigen. In Abb. 5 sehen wir an einem Versuchsbeispiel, daß dies in der Tat der Fall ist. Hier wurde die Wirkung von je 1 g Gehirnextrakt vor und nach Permutitbehandlung verglichen. Die geringere Kontraktion nach Permutitbehandlung zeigt den wahren Azetylcholin-

gehalt des Gehirns, während im unvorbehandelten Extrakt die Wirkung des Kaliums mit zur Geltung kommt.

So glauben wir in der Permutitbehandlung der Organauszüge ein Verfahren ermittelt zu haben, durch welches die störende Kaliumwirkung ausgeschaltet und eine mengenmäßige Bestimmung des Azetylcholingehaltes am Blutegelmuskel oder Froschrectus mit größerer Genauigkeit ausgeführt werden kann.

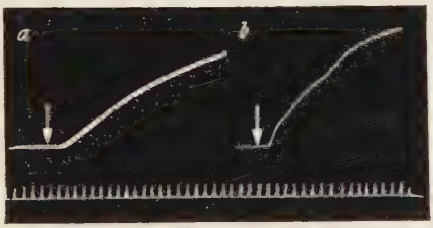


Abb. 5.
a = Wirkung von 1 g Gehirnextrakt. *b* = Wirkung von 1 g Gehirnextrakt.

Zusammenfassung.

1. Durch Schütteln mit Permutit kann Kalium aus wässerigen Lösungen quantitativ entfernt werden, so daß es weder biologisch noch chemisch nachweisbar ist.

2. Die Wirkung von Azetylcholinlösungen auf den Blutegelmuskel und Froschrectus wird durch Schütteln mit Permutit bei p_H 5,0 nicht beeinflußt.

3. Die additive Wirkung einer Mischung von Kalium und Azetylcholin auf den Blutegelmuskel und Froschrectus wird nach Permutitbehandlung auf die dem Azetylcholingehalt der Lösung entsprechende Wirkung reduziert.

4. Die Permutitwirkung auf das Kalium kommt auch bei Gegenwart der im Gewebe anwesenden Salze zustande.

5. Die Wirkung der mit Permutit behandelten Organauszüge ist am Blutegelmuskel oder Froschrectus zufolge der Entfernung des Kaliums geringer als jene der unbehandelten Extrakte, so daß die nach Permutitbehandlung erhaltene Zusammenziehung über den wirklichen Azetylcholingehalt der Gewebe Aufschluß gibt.

Literatur.

1) Minz, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 85; **168**, 292 (1932). 2) Führer, H.: Biochem. Z. **92**, 347 (1918); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 81 (1918). — 3) Chang, H. C., u. J. H. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **79**, 255 (1933). — 4) Gollwitzer-Meier, K., u. E. Krüger: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 642 (1934). — 5) Ammon, R., u. W. Dirscherl: Fermente, Hormone, Vitamine. Leipzig, Georg Thieme, 1938. S. 299.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. S. Janssen.)

Die Pharmakologie des herzwirksamen Stoffes der Mistel.

Von

Dr. A. Enders.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juli 1940.)

I. Einleitung.

In der Mitteilung über die Chemie der Wirkstoffe der Mistel[1] wurde eine Routinemethode zur Gewinnung des Herzstoffes der Mistel geschildert. Dabei zeigte sich, daß durch Extraktion der Viscumdroge mit Trichloräthylen, durch mehrfache Fällung mit Benzol und Eisessig ein hellgelbes Pulver gewonnen werden konnte. Dieses Pulver rief schon in einer mittleren Dosis von 3–4 mg bei Katze und Kaninchen systolischen Herzstillstand hervor. Die Wirkung dieser verschiedenen Fällungen sowie die des einfachen wässerigen Extraktes der Misteldroge im Blutdruckversuch an Katze und Kaninchen soll im folgenden gezeigt werden. Die Schilderung dieser Versuche wird zugleich wesentliche Aufschlüsse über die Qualität des Mistelherzstoffes geben.

II. Blutdruckversuche.

Bei Infusion des einfachen wässerigen Extraktes pulverisierter Mistelblätter ergibt sich eine Kurve, wie es Abb. 1 zeigt.

Zur Technik des Versuches sei folgendes gesagt: Als Versuchstier diente ein Kaninchen, das mit Urethan narkotisiert war. Die Lösung des Mistelstoffes fließt mit gleichbleibender Geschwindigkeit aus einer graduierten Bürette in die Vena jugularis ein.

Damit die Herzrhythmusstörungen gut zum Ausdruck kamen, wurde ein Membranmanometer zur Registrierung des arteriellen Blutdruckes verwandt. Die Zeitschreibung erfolgte in Sekunden. Wir registrierten in diesem Falle jedoch nicht fortlaufend, um eine die Übersicht störende Länge der Kurve zu vermeiden.

Aus der Kurve ergibt sich, daß zu Beginn der Infusion die Pulse zunächst regelmäßig bleiben. Ebenso bleibt der arterielle Blutdruck vorerst

[1] Enders, A., O. Feuchtinger u. S. Janssen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 290 (1940).

auf seiner normalen Höhe. Im Gegensatz zum blutdruckwirksamen Stoff[2] vergeht eine gewisse Latenzzeit, bis man die Wirkung des Mistelherzstoffes an dem Verlauf der Blutdruckkurve erkennen kann. Erst nach einigen Minuten sinkt dann der arterielle Blutdruck ab. Während dieses Absinkens erkennt man an mehreren Stellen plötzlich auftretende und wieder verschwindende Unregelmäßigkeiten des Herzschlages. Gleichzeitig ändert sich die Pulsfrequenz, schnelle und langsame Phasen lösen einander ab. Am Schluß ist die Herztätigkeit völlig ungeordnet, der Blutdruck sinkt immer mehr[3]. Nach einigen letzten trägen Kontraktionen steht das Herz still. Bei der unmittelbar nach dem Tode durchgeführten Sektion fühlt sich das Herz hart an und seine Ventrikel enthalten kaum Blut: es ist systolischer Herzstillstand eingetreten. Dies ist das für die Mistelwirkung bezeichnende Vergiftungsbild, wie es von uns bei der Anreicherung und Isolierung des herzwirksamen Stoffes zu dessen Nachweis benutzt wurde. Eine Abweichung ergibt sich nur dann, wenn man den wirksamen Mistelextrakt sehr langsam infundiert; es zeigt sich dabei statt des systolischen ein diastolischer Herzstillstand. Eine Analyse des Vergiftungsbildes durch Viscum

Abb. 1. Kaninchen 2,9 kg. Infusion des wässrigen Extraktes der Droge. Arterieller Blutdruck. (Membranmanometer.) Systolischer Herzstillstand. Urethannarkose.

[2] Feuchtinger, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 290 (1940). - [3] Ebster, H., u. A. Jarisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **145**, 297 (1929).

album läßt erkennen, daß die langsame, erst nach einer gewissen Latenzzeit auftretende Senkung des arteriellen Blutdruckes die Folge einer Herzschädigung ist. Dies geht aus den gleichzeitigen Rhythmusstörungen sowie aus dem geschilderten Obduktionsbefund hervor.

III. Das Verhalten des Venendruckes.

Um diese Ansicht noch weiter zu stützen und um zugleich einen noch genaueren Einblick in die Art dieser Herzwirkung zu erhalten, wurde das Verhalten des Venendruckes untersucht. Statt des gebräuchlichen Wassermanometers verwandten wir zur Registrierung des venösen Druckes ein Membranmanometer mit ganz dünner Gummimembran, dessen Schlauchsystem an die rechte Vena jugularis angeschlossen wurde. Während sonst bei eintretender Herzschädigung infolge des gestiegenen Venendruckes ein „Aderlaß" in das Schlauch- und Röhrensystem des Wassermanometers stattfindet — was einer Erleichterung der Herzarbeit gleichkommt und somit die Verhältnisse verwischt —, wurde dies bei unserer Versuchsanordnung vermieden. Ferner war der Ausschlag bei maximaler Steigerung des Venendruckes relativ gering, die Venendruckkurve wurde dadurch im ganzen übersichtlicher. Auch dies ist ein großer Vorzug gegenüber dem Wassermanometer, bei dem schon bei einer mittleren Herzschädigung die Venendruckkurve beinahe senkrecht nach oben verläuft und somit über den weiteren Verlauf des venösen Druckes keine Aussagen gestattet. Endlich zeichnen sich bei diesem Verfahren die einzelnen Puls- und Atemschwankungen wesentlich besser ab.

Einen Versuch mit Aufzeichnung des Venendruckes zeigt Abb. 2. Als Versuchstier diente eine Katze in Urethannarkose. Infundiert wurde die wässerige Lösung des abgedunsteten Eisessigextraktes der Mistel. Diese Station unserer Routinemethode[4] liefert eine Fraktion, die zwar herzwirksamer als der einfache wässerige Extrakt des Mistelpulvers ist, welche aber noch den blutdruckwirksamen Stoff enthält (vgl. vorhergehende Arbeit). Der arterielle Blutdruck wurde bei diesem Versuch mit dem Quecksilbermanometer aufgezeichnet.

Der Verlauf des arteriellen Blutdruckes zeigt bei der Infusion die gleichen schon oben geschilderten Erscheinungen. Wir sehen einen allmählichen Abfall, der nur an einigen Stellen der Kurve — die Lösung wurde zeitweise etwas rascher infundiert — ein plötzliches, starkes Absinken erkennen läßt. Bemerkenswerterweise erholt sich der arterielle Blutdruck jeweils sehr rasch wieder von diesen Senkungen. Außerdem sind sie in keinem Falle von einem entsprechenden Steigen des venösen Blutdruckes begleitet. Dies beweist, daß es sich bei diesen plötzlichen, vorübergehenden Blutdrucksenkungen um die Wirkung des blutdruck-

[4] Enders, A., O. Feuchtinger u. S. Janssen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 290 (1940).

wirksamen Stoffes der Mistel handelt[5]. Das Verhalten des Venendruckes, auf das bei der Untersuchung am meisten Wert gelegt wurde, stellt sich im weiteren Verlauf wie folgt dar:

Nach Beginn der Infusion ändert er sich zunächst nicht. Auch hier vergeht also eine gewisse Latenzzeit, bis irgendwelche Erscheinungen auf-

Abb. 2. Katze 2.2 kg. Urethannarkose. Ab ▲ Infusion der wässerigen Lösung des abgedunsteten Eisessigextraktes. Systolischer Herzstillstand.

treten. Nach einigen Minuten aber beginnt der Venendruck kontinuierlich anzusteigen. Dieses langsame Ansteigen ist dem Absinken des arteriellen Blutdruckes proportional und beginnt zur selben Zeit. Der venöse Blut-

[5] Feuchtinger, O.: l. c.

druck steigt während der Infusion immer mehr an und erreicht beim endgültigen Herzstillstand sein Maximum. Da wir nun das Steigen des venösen Druckes als Zeichen einer Herzschädigung auffassen, so müssen wir auch die langsame arterielle Blutdrucksenkung als Folge einer solchen betrachten.

Abb. 3. Katze 3,5 kg. Urethannarkose. Infusion des Viscumherzstoffes. Systolischer Herzstillstand.

Die Infusion des weitgehend gereinigten Herzstoffes, des Endproduktes unserer Routinemethode, zeigt Abb. 3. Hier wurde der arterielle Druck mit Quecksilbermanometer, der venöse Blutdruck mit Membranmanometer aufgezeichnet. Als Versuchstier diente eine mit Urethan narkotisierte Katze. Auch auf dieser Kurve beobachtet man nach Ablauf einer gewissen Latenzzeit das langsame Absinken des arteriellen Druckes und das besonders bezeichnende Steigen des venösen Blutdruckes, ferner Perioden von Irregularitäten der Herzschlagfolge. Bei der nach dem Herzstillstand durchgeführten Sektion findet sich die gewohnte, systolische Kontraktur des Herzmuskels.

Alle diese Erscheinungen führen zu der Deutung, daß es sich bei der Einwirkung dieser von der blutdruckwirksamen Komponente befreiten Mistelfraktion in der Tat um eine Herzwirkung handelt. Die dabei eintretenden Unregelmäßigkeiten der Schlagfolge, der Sektionsbefund sowie das Ansteigen des Venendruckes im besonderen weisen auf eine

Schädigung der Herztätigkeit hin. Dieses Ansteigen des Venendruckes beweist, daß das Herz im Verlauf der Viscumeinwirkung die ihm zufließende Menge Blut nicht mehr in ausreichendem Maße fördert.

IV. Der Einfluß extrakardialer Faktoren.

a) Vagotomie.

Wir gingen weiterhin der Frage nach, ob bei dieser Schädigung der Herztätigkeit durch die Mistel extrakardiale Nerveneinflüsse eine Rolle spielen. Zu diesem Zweck untersuchten wir zunächst den Einfluß einer vorhergegangenen, doppelseitigen Vagotomie auf den Ablauf des Blutdruckversuchs. Weder das Verhalten des arteriellen noch das des venösen Blutdruckes zeigte eine Abweichung des gewohnten Kurvenverlaufs. Daraus ist zu schließen, daß den im Vagus verlaufenden Nervenfasern keine Bedeutung bei der Vergiftung durch den Mistelherzstoff zukommt.

Schneidet man aber die Vagi nicht vor dem Beginn der Infusion durch, sondern — wie Jarisch erst dann, wenn bereits ein erheblicher Abfall des arteriellen Blutdruckes eingetreten ist, so steigt der Blutdruck allerdings wieder an. Damit ist jedoch nicht gesagt, daß die arterielle Blutdrucksenkung, wie Henze und Jarisch[6] annehmen, reversibel ist, denn die nach der Vagotomie folgende Steigerung des arteriellen

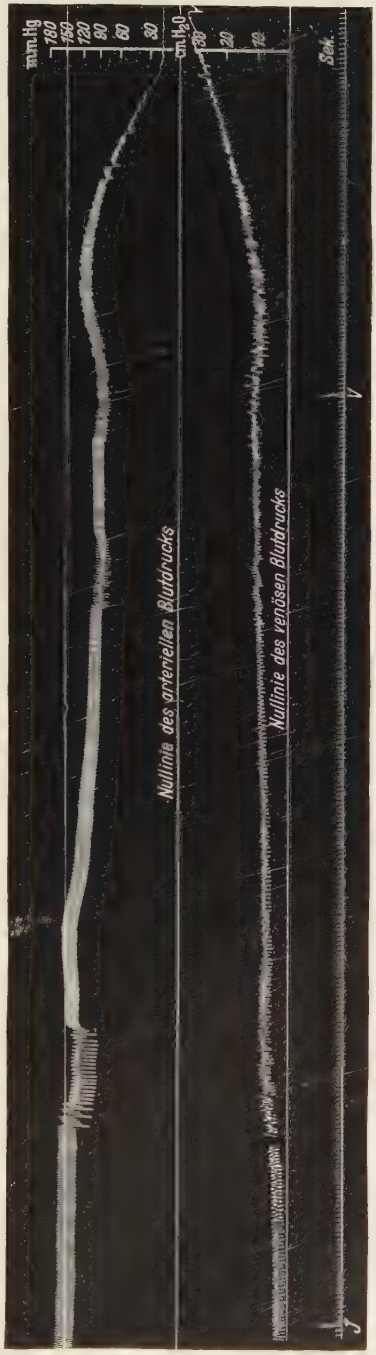


Abb. 4. Katze 2.5 kg. Urethannarkose. Ab *J* Dauerinfusion des Viscumherzstoffes. Bei *V* doppelseitige Vagotomie. Systolischer Herzstillstand.

[6] Jarisch, A., u. C. Henze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 706 (1937).

Blutdruckes ist nur vorübergehend. Außerdem ist sie keine Rückführung auf den normalen Zustand des Kreislaufs, weil sie nicht von einer parallel gehenden Senkung des venösen Druckes begleitet ist, wie wir dies in entsprechenden Versuchen nachwiesen (Abb. 4). Im Gegenteil, die Steigerung des Venendruckes setzt sich während dem kurzandauernden Ansteigen des arteriellen Blutdruckes unbeeinflußt fort, bald sinkt auch der arterielle Blutdruck wieder, und im weiteren Verlauf kommt es zum gewohnten systolischen Herzstillstand. Diese Befunde sind wie folgt zu deuten: Durch die Vagusausschaltung wird keinesfalls die am Venendruck bewertete Herzleistung gehoben. Vielmehr findet hier im akuten Versuch eine vorübergehende vasomotorische Kompensation des kardialen Leistungsausfalles statt, wie wir es in ähnlicher Weise bei der Sahlischen Hochdruckstauung der chronisch Herzkranken finden.

b) Ausschaltung des Parasympathicus durch Atropin.

Die Bedeutungslosigkeit des efferenten, parasympathischen Systems bei der Herzschädigung durch Viscum album zeigt sich noch deutlicher bei vorhergehender Atropinisierung des Versuchstieres. Abb. 5 zeigt einen derartigen Versuch an einer Katze, bei der ebenfalls arterieller und venöser Blutdruck mittels Membranmanometer registriert wurde. Das Tier war mit Urethan narkotisiert. Im einzelnen sehen wir folgendes: Bei 1 wurde 0,2 γ Azetylcholin gespritzt. Die darauf einsetzende Blutdrucksenkung verläuft bezeichnenderweise ohne entsprechende Venendrucksteigerung. Bei 2 werden 2 mg Atropin gespritzt. Diedanach injizierte doppelte Dosis Azetylcholin — bei 3 — ist jetzt ohne jegliche Wirkung. Dies diente uns als Beweis, daß wir eine hinreichende Blockierung des cholinergischen Systems erreicht hatten. Darauf infundierten wir in üblicher Weise unseren gereinigten Herzstoff. Nach der gewohnten Latenzzeit sehen wir auch am atropinisierten Tier das bekannte Vergiftungsbild: Es stellen sich Irregularitäten ein, der arterielle Blutdruck sinkt, der Venendruck steigt, es kommt zum systolischen Herzstillstand.

c) Die Mistelwirkung nach Vergiftung mit Ergotamin und nach Dekapitierung.

Der Mistelherzstoff entfaltet die bereits mehrfach geschilderte Wirkung im Blutdruckversuch auch an mit Ergotamin vergifteten Tieren sowie an dekapitierten Katzen. Die Versuche mit Ergotamin zeigen, daß bei dieser Vergiftung die sympathischen Nervenendigungen keine Rolle spielen. Die gleichen Ergebnisse am dekapitierten und somit künstlich beatmeten Tier weisen darauf hin, daß der Tod durch den Mistelherzstoff unabhängig vom Atemzentrum erfolgt.

Abb. 5. Katze 2,6 kg. Infusion des Viscumherzstoffes nach Atropinisierung. Arterieller und venöser Blutdruck mit Membranmanometer. 1. Injektion von 0,2 γ Azetylcholin. 2. Injektion von 2 mg Atropin. 3. Injektion von 0,4 γ Azetylcholin. 4. Beginn der Infusion des Herzstoffes. Systolischer Herzstillstand. Urethannarkose.

V. Versuche am isolierten Herzen.

Da die Ausschaltung des parasympathischen, des sympathischen und des Zentralnervensystems keine abweichenden Verlaufsarten des Vergiftungsbildes hervorgerufen hatten, lag die Vermutung nahe, daß die Wirkung des Mistelherzstoffes an der Muskulatur und am Reizleitungssystem des Herzens selbst einsetzt. Wir untersuchten daher die Arbeitsleistung des isolierten Herzens.

a) Verhalten des Froschherzpräparates.

Wir wandten zunächst die Methode von E. Bülbring[7] an, die am Frosch durchgeführt dem Herz-Lungenpräparat von Starling entspricht. Hierbei erzielt man durch Erhöhung des venösen Zuflusses der Ringerlösung eine Steigerung des Herzminutenvolumens bis zu einem Maximum. Nach einiger Zeit „ermüdet" das Präparat, das maximale Minutenvolumen wird geringer, das Herz wird hypodynam. Das gleiche Ergebnis erzielt man durch Zufluß calciumfreier Ringerlösung. Läßt man einem derartig geschädigten Herzen Strophanthin zufließen, so bessert sich die Herzleistung wieder. Dies ist aus der Literatur[8] bekannt und wurde von uns nachgeprüft. Gibt man aber Mistelsubstanz in Gestalt des einfachen wässerigen Extraktes der Droge oder als unseren gereinigten Herzstoff, wie man ihn durch unsere Routinemethode erhält, so bessert sich die Herzleistung nie (Tabelle 1). Bei unseren dahingehenden Versuchen tauschten wir die reine Kaltblüter-Ringerlösung, die dem Präparat auf der venösen Seite des Kreislaufs durch die große Bauchvene zufloß, durch viscumhaltige Ringerlösung aus und reicherten das Froschherz allmählich mit dem herzwirksamen Stoff an.

Tabelle 1. Wirkung des Mistelherzstoffes am Bülbringschen Froschherzpräparat.

A. Am ermüdeten Herzen:

Zuflußhöhe in mm	Förderleistung in ccm pro Minute		
	normal	nach Ermüdung	nach Viscumzufuhr
20	2,2	1,6	1,4
60	4,8	4,0	4,2
100	6,3	4,8	5,0

B. An dem durch Calciummangel geschädigten Herzen:

Zuflußhöhe in mm	Förderleistung in ccm pro Minute		
	normal	nach Calciummangel	nach Viscumzufuhr
20	2,8	2,0	1,8
60	4,4	2,8	2,6
100	3,4	2,4	2,2

[7] Bülbring, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **153**, 257 (1930). — [8] Bülbring, E.: l. c.

Man könnte nun einwenden, daß es ähnlich wie bei Strophanthin eine therapeutische und eine toxische Dosis für das Herz gibt und daß wir bei unseren Versuchen immer nur die toxische Dosis verabreicht hätten. Da sich aber das Herz, wie geschildert, jeweils langsam mit dem Mistelstoff anreicherte und da das Minutenvolumen während dieser Zeit laufend gemessen wurde, hätte sich auf dem Wege von der unwirksamen zur tödlichen Dosis eine therapeutische Dosis finden lassen müssen, wenn eben eine solche überhaupt existieren würde. Eine Steigerung des Minutenvolumens – d. h. eine Besserung der Herzleistung — durch die Mistelwirkung fanden wir jedoch niemals. Im Gegenteil, nach längerer Einwirkung sank die Herzförderleistung stets und es kam im weiteren Verlauf zum gewohnten systolischen oder auch diastolischen Stillstand des Herzens Dieselben Ergebnisse hatten Jarisch und Comninos[9] am Straubschen Froschpräparat: Comninos fand systolischen Stillstand bei schneller, diastolischen Stillstand bei langsamer Applikation. Die gleichen Verhältnisse ergaben sich, wie oben angeführt, bei langsamer oder rascher Infusion am Warmblüterherzen. Weiterhin beobachtete Comninos vor dem Eintritt des Herzstillstandes eine Zunahme der Systole bei gleichzeitiger Abnahme der Diastole. Auch dies bildet eine Bestätigung unserer Versuche am Bülbringschen Froschherzpräparat: denn eine Zunahme der Systole mit Abnahme der Diastole ist bei gleichbleibender Frequenz und gleichbleibendem arteriellen Druck unvereinbar mit einem therapeutischen Effekt auf die Herzförderleistung.

b) Verhalten des Herz-Lungenpräparates nach Starling.

Um in entsprechender Weise die Verhältnisse am Warmblüterherzen kennenzulernen, wurde auch die Wirkung des Mistelherzstoffes am Starlingschen Herz-Lungenpräparat der Katze untersucht. Auch hier vermißten wir eine Förderung der Herzleistung, das Minutenvolumen blieb entweder gleich oder verschlechterte sich sogar unter dem Einfluß von Viscum album. Wir gaben dabei jeweils zu Beginn der Versuche kleine, dann allmählich größere Mengen, um auch hier dem Einwand zu begegnen, toxische Dosen verabreicht und ein etwa vorhandenes therapeutisches Stadium übersprungen zu haben. Tabelle 2 zeigt die Daten von zwei solchen Versuchen. Das eine Präparat, A, wurde durch Erhöhung des venösen Zuflusses ermüdet, bis eine Schädigung der Herzleistung erreicht war. Nachdem so eine Verringerung des Minutenvolumens und eine Steigerung des Vorhofdruckes erzielt war, wurde mehrfach hintereinander, in Zeitabständen von einigen Minuten, der Mistelherzstoff zugegeben. Wir verabreichten $^1/_{50}$, $^1/_{25}$ und dann nochmals $^1/_{25}$ der letalen Dosis. Danach erfolgte keine Verbesserung, sondern im Gegenteil eine weitere Verschlechterung der Herzleistung. Jetzt gaben wir Strophanthin: dies be-

[9] Ebster u. Jarisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **145**, 297 (1929); Comninos, Stamatis: Ber. d. Naturforsch. Ges. Freiburg i. Br. **36**, 278 (1939).

wirkte ein Ansteigen des Minutenvolumens bei gleichzeitigem Sinken des Vorhofdruckes. Dies beweist, daß das Präparat auf therapeutisch wirksame Stoffe noch ansprechbar war. Auch wenn man höhere Dosen des Mistelherzstoffes gibt, erzielt man nur eine Schädigung des Herzmuskels. Tabelle 2 B läßt erkennen, wie auch die Verabreichung von im ganzen ein Drittel der letalen Dosis die Förderleistung des ermüdeten Herz-Lungenpräparates zu erhöhen außerstande ist. Auch bei diesem Versuch wurden die einzelnen Dosen, mit $^1/_{50}$ der Dosis letalis beginnend, allmählich gesteigert. Nach Applikation einer so großen Menge des Mistelherzstoffes war auch die Zugabe von Strophanthin nicht mehr imstande, die Herzleistung wieder zu bessern. Das Herz blieb in systolischer Kontraktur stehen. Der herzschädigende Einfluß, sowohl unseres gereinigten Mistelherzstoffes, wie auch des einfachen wässerigen Extraktes der pulverisierten Droge wurde in diesen Versuchen bestätigt im Gegensatz zu kardiometrischen Untersuchungen von Ebster, in Übereinstimmung mit solchen von Henze und Jarisch[10].

Tabelle 2. Wirkung des Mistelherzstoffes am Starlingschen Herz-Lungenpräparat.

A. Bei Zugabe kleiner Viscumdosen. (Im ganzen $^1/_{10}$ der Dos. let.)

Zeit in Min.	Förderleistung in ccm/Min.	Vorhofdruck in mm Wasser	Zuflußhöhe in cm
0	220	45	40
16	190	102	40
18	Viscum $^1/_{50}$ der Dos. let.		
20	178	148	40
23	Viscum $^1/_{25}$ der Dos. let.		
24	155	200	40
28	Viscum $^1/_{25}$ der Dos. let.		
30	65	160	20
31	Strophanthin 0,1 mg		
37	140	60	20

B. Bei Zugabe größerer Viscumdosen. (Im ganzen $^1/_3$ der Dos. let.)

0	200		40
51	170		40
52	Viscum $^2/_{100}$ der Dos. let.		
53	150		40
58	Viscum $^6/_{100}$ der Dos. let.		
64	150		40
66	Viscum $^6/_{100}$ der Dos. let.		
68	140		40
69	Viscum $^{10}/_{100}$ der Dos. let.		
71	150		40
72	Viscum $^{10}/_{100}$ der Dos. let.		
75	110		40
80	50		40
80	Strophanthin 0,1 mg		
82	Herzstillstand		

[10] Ebster: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **145**, 312 (1929); Jarisch u. Henze: l. c.

VI. Die Rhythmusstörungen.

Jene Unregelmäßigkeiten des Herzschlages, die wir bereits an der mit dem Membranmanometer aufgezeichneten Kurve registriert hatten, wurden von uns weiterhin besonders an Tieren mit geöffnetem Thorax untersucht. Bei dieser direkten Beobachtung sahen wir, daß in zahlreichen Fällen der Vorhof vor den Ventrikeln stillstand. War das Herz schon stärker vergiftet, dann kontrahierten sich die Ventrikel nur noch langsam und wurmförmig.

Die elektrokardiographische Analyse ergab zu Beginn der Mistelwirkung auf das Herz eine Abnahme der Höhe der Vorhofzacke. Dies setzten wir mit dem, oft beobachteten, vorzeitigen Stillstand der Vorhöfe in Parallele. In fortgeschrittenen Stadien bildete sich ein Knotenrhythmus aus, die Reizbildung fand nurmehr im Aschoff-Tavaraschen Knoten statt. Weiterhin zeigten sich Extrasystolen. Kurz vor dem endgültigen Herzstillstand sahen wir meist Kammerautomatien. Diese von uns mit dem gereinigten Herzstoff erhobenen Befunde[11] sind inzwischen auch von Henze und Ludwig[12] veröffentlicht worden. Da diese Autoren mit dem einfachen Kaltwasserextrakt der Mistel arbeiteten und trotzdem zu den gleichen Resultaten kamen, muß das Auftreten dieser Arrhythmien unabhängig von der Anwesenheit des blutdruckwirksamen Stoffes sein. In gleiche Richtung weisen Befunde, die bei Blutdruckversuchen an vagotomierten und atropinisierten Tieren gewonnen wurden (Abb. 3 und 4). Auch hier traten Rhythmusstörungen auf, die sich somit als vom parasympathischen System unabhängig zeigten. Auch der Nachweis, daß der blutdruckwirksame Stoff nach Atropinisierung nicht mehr wirkt[13], beweist, daß die bei Vergiftung mit Viscum album am atropinisierten Tier auftretenden Rhythmusstörungen nicht durch den blutdruckwirksamen Stoff hervorgerufen werden.

VII. Diskussion der Herzwirkung.

Aus der Tatsache, daß der Einfluß des Mistelherzstoffes am vagotomierten, atropinisierten, ergotaminisierten und dekapitierten Tier, am isolierten Herzen des Kalt- und Warmblüters im wesentlichen die gleichen Erscheinungen wie am normalen Versuchstier zeigt, ist zu folgern, daß der Herzstoff der Mistel die Herzmuskelfasern direkt beeinflußt. Daß es nicht nur eine Herzmuskelwirkung, sondern allgemein eine Muskelwirkung ist, geht aus den Versuchen von Comninos[14] hervor, der ähnliche Wirkungen am normalen Skeletmuskel des Frosches feststellen konnte. Bei beiden Muskelarten handelt es sich um eine Abnahme der Erregbarkeit und Neigung zur Kontraktur. Die Folgen dieser Muskelwirkung sind am Kreislauf Rhythmusstörungen und arterielle Blutdrucksenkung mit gleich-

[11] Enders, A.: Ber. d. Naturforsch. Ges. Freiburg i. Br. **36**, 244 (1939). — [12] Henze, C., u. W. Ludwig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 694 (1937). — [13] Feuchtinger, O.: l. c. — [14] Comninos, St.: l. c.

zeitigem Venendruckanstieg, alles Zeichen einer Leistungsherabsetzung des Herzens.

Diese Blutdrucksenkung, die durch eine herabgesetzte Leistung des Herzens bewirkt ist, unterscheidet sich gegenüber den Wirkungen der von Feuchtinger[15] untersuchten blutdrucksenkenden Substanz durch ihre Irreversibilität, durch das Verhalten des Venendruckes und durch die für sie bezeichnende Latenzzeit.

Jarisch und Mitarbeiter[16] nehmen an, daß diese Blutdrucksenkung durch den Herzstoff der Mistel ganz oder zum Teil von sensiblen, im Herzen entstehenden Reizen ausgelöst wird. Sie stützen sich im wesentlichen auf den Befund, daß eine im Verlauf der Mistelwirkung durchgeführte beiderseitige Ausschaltung des Vagus den Blutdruck wieder zur Norm zurückbringt. Wir bezweifeln nicht die Tatsache, wohl aber die Spezifität dieser Erscheinung, denn der unter der Mistelwirkung erhöhte Venendruck sinkt durch Vagotomie nicht wieder ab. Ferner wird das Ansteigen des Venendrucks durch Atropinisierung nicht verhindert. – Die verminderte Herzleistung wird also nicht mehr gebessert.

Das von Jarisch beobachtete Phänomen scheint auch bei anderen depressorischen Giften, z. B. beim Veratrin (Jarisch) und beim Azetylcholin (Feuchtinger) vorhanden zu sein.

Befunde von Comninos[17] am Kaninchenohr- und Froschgefäßpräparat, die eine Kontraktion der Gefäße durch den Mistelherzstoff zeigen, widersprechen unserer oben angeführten Ansicht nur scheinbar. Nach diesen Ergebnissen könnte man die Herzschädigung auf eine Verengerung der Coronargefäße beziehen. Am hiesigen Institut konnte Herr Berg jedoch nachweisen, daß im Verlauf einer Vergiftung mit dem Mistelherzstoff das durch die Herzkranzgefäße geförderte Blut nicht abnimmt (nicht veröffentlichte Versuche). Ferner tritt eine Lähmung und systolische Kontraktur auch am isolierten Froschherzen ein[18], welches keine Coronarien besitzt. Die Wirkung muß also auf einer Schädigung der Herzmuskelfaser selbst beruhen.

VIII. Verhältnis des Viscumherzstoffes zu den Stoffen der Digitalisgruppe.

Einen Einfluß auf die Herzmuskulatur und auf das Reizleitungssystem kennt man auch bei den Digitalisstoffen; diese Ähnlichkeit veranlaßte Bijlsma[19] und nach ihm Jarisch[20] zu der Behauptung, die Mistel wirke digitalisartig. Dagegen wäre folgendes einzuwenden: Erstens steigert der Mistelherzstoff in keiner Weise die Herzförderleistung, wie unsere Versuche am Bülbringschen Froschpräparat und am Starlingschen Herz-Lungenpräparat zeigten. Zweitens findet bei Toxizitätsprüfungen, die wir durch-

[15] Feuchtinger, O.: l. c. — [16] Jarisch u. Henze: l. c.; Jarisch u. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 89 (1940). — [17] Comninos, St.: l. c. — [18] Comninos, St.: l. c. — [19] Bijlsma, U. G.: Arch. neérl. Physiol. II, 142 (1927). — [20] Ebster, H., u. A. Jarisch: l. c.

führten[21], keine Addition zwischen Strophanthin und Viscum statt. Bei diesen Versuchen infundierten wir Katzen 33 % der letalen Viscummenge innerhalb 15 Minuten in die Vena jugularis. Sofort danach verabreichten wir eine Strophanthinlösung. Hätten sich diese beiden Stoffe, gleichartig in ihrer toxischen Wirkung, addiert, so wäre der Tod der Versuchstiere nach weiteren 30 Minuten, d. h. nach Zufuhr von 66 % der tödlichen Strophanthindosis eingetreten. Der Herzstillstand erfolgte jedoch nach Infusion einer wesentlich geringeren Strophanthinmenge, die 30 bis höchstens 50 % der Dosis letalis entsprach. Ferner ergibt sich aus dem oben geschilderten Verhalten am Starling-Präparat, daß eine durch kleinere Viscumdosen erzeugte Herzschädigung durch Strophanthin gebessert wird. Beide Tatsachen weisen auf die verschiedene Qualität des Mistelherzstoffes und der Digitalissubstanzen hin.

Auch besitzt die Viscumdroge keine kumulierende Wirkung[22]. Man kann Kaninchen mehrfach subletale Dosen injizieren — in einem Versuch bis zu 10mal ein Drittel der Dosis letalis in Abständen von 24 Stunden —, ohne daß dies zum Tode des Versuchstieres führt.

Wollte man die Wirkung der Mistel mit der eines anderen Stoffes vergleichen, so ist sie am Herz- und Skeletmuskel eher ähnlich der Wirkung des Chinins.

IX. Orale Wirksamkeit des Mistelherzstoffes.

Die orale Darreichung des Mistelherzstoffes führt nicht zum Herzstillstand auch bei Gaben, die ein Mehrfaches der bei intravenöser Infusion zum Tode führenden Menge darstellen. Es beruht dies wahrscheinlich auf einer Zerstörung im Magen-Darmkanal vor der Resorption. Die Leber entgiftet das wirksame Prinzip nicht. Bei Versuchen, in denen die Viscumlösung statt in die Vena jugularis in einen Zweig der Vena portae infundiert wurde, fanden wir keine Herabsetzung der Dosis letalis. Auch bei dieser Versuchsanordnung trat der systolische Herzstillstand nach Verabreichung der üblichen Menge unseres Mistelherzstoffes auf.

Versuch I. Katze 2,5 kg. Urethannarkose. Systolischer Herzstillstand nach Infusion von 4 mg/kg des Mistelherzstoffes in die Vena portae.

Versuch II. Katze 2,6 kg. Urethannarkose. Systolischer Herzstillstand nach Infusion von 5 mg/kg des Mistelherzstoffes in die Vena portae.

X. Der Einfluß des Mistelherzstoffes auf die glatte Muskulatur.

Am isolierten Kaninchendarm und am isolierten Meerschweinchenuterus bewirkt der gereinigte Herzstoff eine auswaschbare, durch Atropin nicht beeinflußbare Kontraktur[23]. Wir fanden ferner, daß submaximale Dosen eine Lösung von Viscumherzstoff in Tyrode im Verhältnis

[21] Enders, A.: l. c. — [22] Comninos, St.: l. c. — [23] Comninos, St.: l. c.

1:5000 —, am Kaninchendarm die Gesamtlänge verkürzen, ohne die Pendelbewegungen völlig zu hemmen, nur ihre Höhe nimmt ab. Im Vergleich zur Wirkung des Azetylcholins fällt auf, daß bei größeren Dosen die Kontraktur erst nach einer Latenzzeit von 1—2 Minuten einsetzt. Ebenso erfolgt die Lösung der Kontraktur erst 2—4 Minuten nach dem Spülen.

Zusammenfassung.

1. Der Herzstoff der Mistel besitzt einen kardiomuskulären Angriffspunkt.

2. Die erst nach einer längeren Latenzzeit einsetzende und allmähliche arterielle Blutdrucksenkung und die damit parallel gehende venöse Blutdrucksteigerung sind die Folgen dieser Herzschädigung.

3. Die Wirkung des Mistelherzstoffes ist nicht digitalisartig; insbesondere ist kein positiver Einfluß auf die Herzförderleistung festzustellen.

4. Die herzwirksame Substanz der Mistel kumuliert nicht.

5. Der Viscumherzstoff ist per os gegeben unwirksam.

6. Der Skeletmuskel des Frosches wird durch den Herzstoff gelähmt.

7. Der isolierte Darm und der isolierte Uterus wird durch den Herzstoff kontrahiert.

Aus dem Pharmakologischen Institut der kgl. Universität Rom.
(Vorstand: Prof. Dr. Pietro Di Mattei.)

Pharmakologische Studien über Enteramin.*

I. Mitteilung: Über die Wirkung von Acetonextrakten der Kaninchenmagenschleimhaut auf den Blutdruck und auf isolierte überlebende Organe.

Von

Vittorio Erspamer.

Mit 9 Textabbildungen (12 Einzelbildern).

(Eingegangen am 15. Juli 1940.)

Einleitung.

In den letzten Jahrzehnten wurde im Epithel des Magendarmtraktes der Wirbeltiere, zuerst durch aspezifische Färbungsmethoden und später auch durch spezifische histochemische Methoden, die Anwesenheit besonderer granulierter Zellen (enterochromaffine, basalgekörnte, argentaffine Zellen) festgestellt [Ciaccio (1), Masson (15), Cordier (3), Hamperl (12), Kull (13), Clara (2) usw.]. Es konnte histochemisch bewiesen werden, daß in den Körnchen dieser Elemente ein Di- oder Polyphenolderivat vorhanden ist [Lison (14), Clara (2), Vialli und Erspamer (16)]. Schon von den ersten Verfassern wurde natürlich die Frage über die Bedeutung der enterochromaffinen Zellen aufgestellt. Sie ist bis jetzt fast völlig ungeklärt geblieben: die diesbezüglich angestellten experimentellen Versuche (über Veränderung der Zahl, der Struktur, der Körnelung der enterochromaffinen Zellen bei Nahrungsversuchen, bei Vitamin- oder Hormondarreichung, bei Entfernung von endokrinen Drüsen usw.) sind fast immer mißglückt. Es schien demnach unmöglich, auf Grund von rein morphologischen Befunden sichere Schlüsse über die physiologische Deutung der enterochromaffinen Zellen ziehen zu können. Die bisher erhaltenen Ergebnisse (besonders diejenigen über die Verteilung der enterochromaffinen Zellen im Magendarmschlauch, in der Bauchspeicheldrüse usw.) sprechen jedoch viel mehr zugunsten einer in weitem Sinne verstandenen endokrinen Funktion als zugunsten einer exokrinen Sekretion solcher Elemente.

Die Theorie der endokrinen Sekretion der enterochromaffinen Zellen ist von Vialli und mir (16) schon 1933 angenommen worden. Um unsere Auffassung experimentell zu stützen, haben wir eine ganze Serie von Unter-

* Mit dem Namen „Enteramin" ist, wie wir sehen werden, das von Vialli und mir (18, 20) mittels chemischer Farbreaktionen in Kaninchenmagenschleimhautextrakten aufgefundene Di- oder Polyphenolderivat bezeichnet worden.

suchungen aufgestellt mit dem erklärten Zweck, einen das spezifische Phenolderivat enthaltenden Extrakt chemisch und biologisch zu prüfen.

Abgesehen von unseren später zu besprechenden Versuchen gibt es darüber fast keine Literaturangabe. Nur Feyrter (8) und Feyrter und Unna (9) berichteten kurz über die biologische Tätigkeit einiger Carcinoidextrakte [die Carcinoide sind kleine gutartige Epithelgeschwülste entodermaler Herkunft, die oft, besonders im Wurmfortsatz und im Caudalabschnitt des Ileums, aus enterochromaffinen Zellen zusammengesetzt sind (15, 8)].

Solche Extrakte wurden von Feyrter mit negativem Erfolg zuerst an dem Blutzuckerspiegel geprüft. Später prüfte derselbe Verfasser gemeinsam mit Unna zwei andere Carcinoidauszüge (Extraktion durch salzsauren Alkohol) auch an dem Blutdruck. Nur für einen (!) der beiden Extrakte konnte bei der decerebrierten Katze eine hypertensive, adrenalinähnliche Wirkung festgestellt werden. Auf Grund dieser vom Rohextrakt einer einzigen Geschwulst gelieferten Ergebnisse glaubte Feyrter den Schluß ziehen zu dürfen, daß die enterochromaffinen Zellen Adrenalin oder einen adrenalinähnlichen Stoff enthalten!

Es sei zu bemerken, daß der Verfasser sich über den Erfolg der durchgeführten Extraktion weder durch histochemische Reaktionen, an extrahierten Gewebsstückchen, noch durch chemische Farbreaktionen, an dem Extrakt selbst, überzeugte.

Um die Herstellung und das Studium eines das spezifische Phenolderivat der enterochromaffinen Zellen enthaltenden Extraktes zu ermöglichen, gingen wir von Grund aus.

Ich konnte vor allem in der Magenfundusregion des Kaninchens eine außerordentlich reichliche Lokalisierung von enterochromaffinen Zellen auffinden (4). Alle meine Versuche, die jetzigen wie auch die vorigen, beziehen sich auf aus der Magenfundusschleimhaut von Kaninchen erhaltene Extrakte.

Im Verein mit Vialli (17) beschäftigte ich mich alsdann mit der Frage über die Fixierbarkeit der enterochromaffinen Zellen. Es wurden mit besonderer Aufmerksamkeit solche Fixierungsmittel in Betracht gezogen, die Säuren, Alkalien, Aceton oder Alkohol enthielten. Das alles in der Vermutung, die sich später als exakt zeigte, daß die für die Fixierung der spezifischen Körnchen schädlichen Stoffe die Extraktion des in ihnen enthaltenen Phenolderivats begünstigten und umgekehrt.

Auf Grund der in diesen vorläufigen Versuchen festgestellten Tatsachen gelang es Vialli und mir (18) sehr bald, aus der Kaninchenmagenschleimhaut Aceton- und Alkoholextrakte zu gewinnen, die dieselben chemischen Farbreaktionen (Diazo-, Chrom-, Kaliumjodat-, Cevidalli- und Zanfrognini-Reaktion) der enterochromaffinen Zellen zeigten und deshalb, mit großer Wahrscheinlichkeit, dasselbe Di- oder Polyphenolderivat enthielten.

In einigen kurzen Mitteilungen (18) haben wir das Verhalten des neuen Phenolstoffes verschiedenen Fällungs- und verschiedenen organischen Lösungsmitteln gegenüber angedeutet.

Auch einige Vorversuche (18) über die biologische Wirkung der von uns hergestellten Magenextrakte auf den Kaninchenblutdruck, auf die Iris des Froschauges, auf die Chromatophoren von Scardinius erithrophthalmus und auf die Gallenblasenmuskulatur des Hundes sind schon 1937 von Vialli und mir durchgeführt worden. Aus den erhaltenen Ergebnissen konnten wir übrigens damals keine Schlüsse über die eventuelle biologische Bedeutung der enterochromaffinen Zellen ziehen.

Auf Grund verschiedener Erwägungen, von denen in einer anderen Arbeit ausführlich die Rede sein wird, haben wir für das neue Phenolderivat die Bezeichnung „Enteramin" vorgeschlagen.

Vorliegende an dem Blutdruck und an einer großen Anzahl von isolierten überlebenden Organen ausgeführte Versuche bezwecken, durch das Studium der von den Rohextrakten des Kaninchenmagens entfalteten Wirkungen, das Kapitel der biologischen Charakterisierung des Enteramins zu eröffnen.

Es soll die Möglichkeit geboten werden, den neuen Phenolstoff auch durch rein biologische Mittel auffinden und auswerten zu können, und auch die Möglichkeit, ihn, immer biologisch, von den anderen schon bekannten Wirkstoffen unterscheiden zu können.

Meine Untersuchungen haben überdies den Zweck verfolgt, das Enteramin auch in mehreren keine enterochromaffinen Zellen enthaltenden Organen und Geweben zu suchen.

Von entscheidender Wichtigkeit zur Erreichung der in dieser und in folgenden Arbeiten mitgeteilten Ergebnisse sind die von mir neuerdings ausgeführten Versuche (5) über die Acetonextrakte der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris. Es gelang mir dadurch das von Vialli und mir (19) mittels chemischer Farbreaktionen aufgefundene Di- oder Polyphenolderivat auch biologisch zu charakterisieren.

Die zum Studium der Octopusextrakte benutzte Methodik ist auch mit überraschend ähnlichen Resultaten für die Kaninchenmagenextrakte angewandt worden.

Zugleich ist von Vialli und mir (20) mit größerer Sorgfalt das schon 1936 begonnene Studium über die chemischen Farbreaktionen der Extrakte und über die Fluoreszenz derselben im Woodschen Lichte wieder aufgenommen worden. Es wurde nicht nur an Magenextrakten, sondern auch an einer großen Anzahl von anderen Organ- und Gewebeextrakten verschiedener Tierarten durchgeführt. Ich halte es für angemessen, die wichtigsten von uns ermittelten Befunde mitzuteilen:

1. In allen geprüften Magen- (Kaninchen, Schaf, Hundskopf, Kalb, Schwein) und Duodenumextrakten (Schaf, Kalb) gelingt es, durch die

Diazoreaktion, durch die Kaliumjodatreaktion (und mehrere andere Oxydationsreaktionen) und endlich durch die Fluoreszenzreaktion das mehr oder weniger reichliche Vorhandensein eines neuen Di- oder Polyphenolderivats (Enteramin) festzustellen.

2. Das Enteramin ist ausschließlich in der Schleimhaut lokalisiert; in der Muskelschicht fehlt es vollkommen. Die Magenfundusregion ist beim Kaninchen daran viel reicher als die entsprechende Pylorusregion.

3. Das Enteramin ist nur zum Teil mit dem in den spezifischen Körnchen der enterochromaffinen Zellen enthaltenen Di- oder Polyphenolderivat zu identifizieren. Nur zum Teil, weil der Enteramingehalt der Magenschleimhautextrakte, wenigstens bei einigen Tierarten, nicht proportional dem enterochromaffinen Zellgehalt zu sein scheint, wohl aber viel bedeutender ist (z. B. beim Schafmagen).

Aus einer solchen Tatsache ist zu schließen, daß mit großer Wahrscheinlichkeit nicht die ganze in den Extrakten vorhandene Enteraminmenge aus den „typischen" enterochromaffinen Zellen herstammt.

4. In keinem anderen Organ- oder Gewebsauszug ist es gelungen, Enteramin oder enteraminähnliche Stoffe aufzufinden. Eine Ausnahme davon machen, wie ich vorläufig schon mitgeteilt habe (6), die Milzextrakte. Diese zeigen dieselben chemischen Farbreaktionen des Enteramins und sollen deshalb Enteramin oder einen enteraminähnlichen Stoff enthalten.

5. Drei von den zahlreichen an den Magenextrakten mit positivem Erfolg geprüften Farbreaktionen sind von uns zum Nachweis des Enteramins und der enteraminähnlichen Stoffe vorgeschlagen worden: die verschieden modifizierte Diazoreaktion (p-Nitranilin), die Kaliumjodatreaktion und die Fluoreszenzreaktion.

Als charakteristisch für das Enteramin soll die weinrote Farbe angesehen werden, die von den Extrakten nach Kuppelung in alkalischem Medium mit dem Diazoniumsalz des p-Nitranilins gezeigt wird. Solche Farbe geht, wenn man nach dem Gebauer-Fulneggschen Verfahren arbeitet, vollkommen oder fast vollkommen in den Amylalkohol über und schlägt auf Zusatz von konzentrierter Salzsäure in Amethystviolett um.

Charakteristisch für das Enteramin ist weiter die bei der Erhitzung der Extrakte mit Kaliumjodat erscheinende violettrote Farbe und schließlich die bei stark alkalisierten Extrakten spät erscheinende silbergrüne Fluoreszenz im Woodschen Licht.

Herstellung der Extrakte.

Die hier benutzten Extrakte sind dieselben, die von Vialli und mir (20) in der soeben besprochenen Arbeit über die Farbreaktionen angewandt worden sind. 247 lebensfrische Kaninchenmagen wurden geöffnet und sorgfältig unter fließendem Wasser gewaschen. Die Schleimhaut der Fundusregion wurde fleißig abgeschoben (1297 g) und mit 4500 ccm Aceton versetzt.

Nach 3tägigem Stehen wurde die Flüssigkeit dekantiert und die Schleimhautfragmente ausgepreßt. Der gesamte Extrakt wurde danach filtriert, das Filtrat im Vakuum eingeengt (bei 34 -40°) und zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde in dest. Wasser aufgenommen und in einem Schütteltrichter zur Entfernung der Fette mehrmals mit Petroläther geschüttelt. Die wässerige Flüssigkeit wurde danach nochmals zur Trockne verdampft und der Rückstand mit 30 ccm dest. Wasser, 110 ccm abs. Äthylalkohol und 519 ccm Aceton versetzt (1 ccm Flüssigkeit = 2 g Schleimhaut). Der Zusatz von Aceton zur hydro-alkoholischen Lösung geschah unter Trübung der Flüssigkeit und Bildung eines gelblichen, zähen Niederschlages. Nach 24stündigem Stehen wurde die inzwischen völlig klar gewordene Flüssigkeit dekantiert und in einer dunklen Flasche aufbewahrt.

Aus sofort vor dem Gebrauch zur Trockne eingedampften Portionen dieses Extraktes wurden die wässerigen Lösungen hergestellt, die zur Ausführung von sämtlichen folgenden Versuchen angewendet wurden.

Auch der durch Aceton gefällte Niederschlag wurde mit 60%igem Alkohol aufgenommen und für einige Kontrollproben benutzt.

Alle anderen aus der Magenschleimhaut und aus den verschiedensten Organen und Geweben gewonnenen Extrakte wurden, immer aus lebensfrischem Material, genau in der gleichen Weise hergestellt.

Was die Milzextrakte betrifft, so verweise ich auf eine spätere Mitteilung. Über die chemischen Farbreaktionen der Extrakte sowie über die Fluoreszenz derselben im Woodschen Lichte wurde schon ausführlich von Vialli und mir berichtet; später werde ich übrigens darauf noch zurückkommen.

Experimentelle Ergebnisse*.

1. Froschrektus.

Fügt man zu dem auf 1 : 100000 eserinisierten Bade eine genügende Menge Kaninchenmagenextrakt hinzu, so kontrahiert sich der Muskel. Vor der Eserinisierung fehlt jede Reaktion oder sie ist bedeutend weniger intensiv. 0,25 ccm Extrakt (1 ccm = 1 g Schleimhaut) lösen denselben Effekt wie 0,19—0,22 γ Azetylcholin aus.

2. Blutegelmuskel.

0,05 ccm Extrakt genügen, um eine merkliche Kontraktion des in einem auf $^1/_{200000}$ eserinisierten Tyrodebade aufgehängten Blutegelmuskels hervorzurufen. 0,1 ccm Extrakt wirkt gleich stark kontrahierend wie 0,08—0,10 γ Azetylcholin.

* In allen folgenden Versuchen wurde das isolierte überlebende Organ in einem kleinen 8 ccm Tyrodelösung (mit oder ohne Glucosezusatz) enthaltenden Bad aufgehängt, das mit Luft durchperlt wurde. — Temperatur des Bades für die Warmblüterorgane: 36—37°.

3. Froschherz.

Es wurde nach Straub suspendiert. Nährflüssigkeit in der Kanüle = 1,7 ccm. Nach Zusatz von 0,1—0,2 ccm Extrakt (1 ccm = 1 g Schleimhaut) beobachtet man eine starke negativ inotrope, manchmal auch negativ chronotrope Wirkung (Abb. 1). 0,1 ccm Extrakt wirken quantitativ und qualitativ ebenso wie 0,07—0,11 γ Azetylcholin.

Nach Atropinzusatz 1 : 100000 zur Nährflüssigkeit verschwindet die negativ inotrope Wirkung (nur in seltenen Fällen bleibt eine Spur davon übrig); oft tritt dagegen eine mäßige positiv inotrope Wirkung hervor.

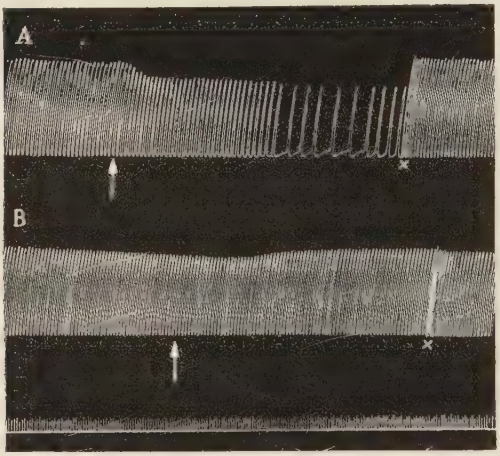


Abb. 1. Wirkung von Kaninchenmagenextrakt auf das isolierte Froschherz.

Bei ↑ 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 2 g Fundusschleimhaut). Zwischen *A* und *B* Atropinsulfat 10^{-5}. Zeitzeichen: 1 Sekunde.

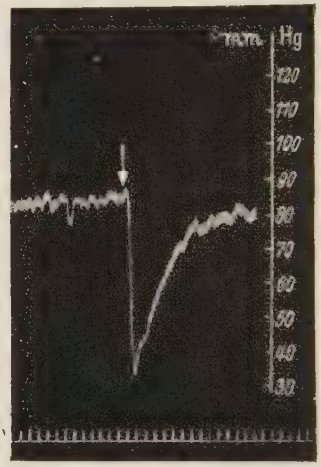


Abb. 2. Wirkung von Kaninchenmagenextrakt auf den Carotisdruck eines 3 kg schweren Kaninchens. Urethannarkose (1,5 g/kg); 10 mg Atropinsulfat subcutan. Bei ↓ intravenöse Injektion von 1 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 4 g Fundusschleimhaut). Zeitzeichen: 10 Sekunden.

4. Blutdruck.

Der Blutdruck wurde bei 2—3 kg schweren Kaninchen aus der einen Carotis mit einem Hg-Manometer registriert. Das urethannarkotisierte (1,5 g/kg intravenös) Tier erhielt vor den Prüfungen auch eine subcutane Injektion von 3—4 mg Atropinsulfat pro kg.

Die intravenöse, durch eine V. jugularis gegebene Injektion von 0,5 bis 1 ccm Extrakt (1 ccm = 4 g Schleimhaut) bewirkt eine bedeutende Blutdrucksenkung (Abb. 2). Obwohl solche ziemlich vorübergehend ist, unterscheidet sie sich doch auch qualitativ von der Blutdrucksenkung, die beim nicht atropinisierten Tiere durch entsprechend aktive Azetylcholindosen zu erhalten ist. Auch die Magenschleimhautextrakte von Schaf, Kalb und Schwein senken etwas den Blutdruck: bei gleicher Konzentration

sind aber 0,5 ccm Kaninchenmagenextrakt wirksamer als 1 ccm Schafmagenextrakt und als 2 ccm Schweine- oder Kalbsmagenextrakt.

Eine Versuchsreihe wurde auch an einer urethannarkotisierten und atropinisierten Katze durchgeführt: die Extrakte wirken immer blutdrucksenkend; viel schwächer aber als beim Kaninchen.

5. Darm.

a) Rattendünndarm.

Wurde schon häufig in meinen früheren Versuchen über die biologische Wirksamkeit der Acetonextrakte der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris benutzt.

Auch jetzt erwies sich der Rattendünndarm als das geeignetste Testobjekt für den biologischen Nachweis und auch für die quantitative Aus-

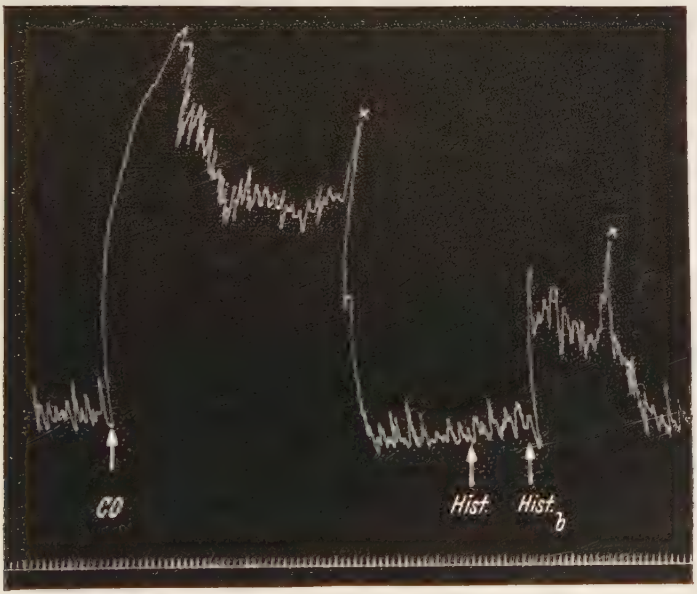


Abb. 3. Wirkung von Kaninchenmagenextrakt und von Histamin auf das atropinisierte Rattenduodenum. *CO* = 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 1 g Fundusschleimhaut). *Hist.* = 0,1 ccm Histamindichlorhydrat 10^{-4}. *Hist.*$_b$ = 0,1 ccm Histamindichlorhydrat 10^{-3}. Zeitzeichen: 10 Sekunden.

wertung des in den Kaninchenmagenschleimhautauszügen enthaltenen Di- oder Polyphenolderivats. Alle Abschnitte des Darmes, besonders aber das Duodenum, sind zum Studium der Extrakte geeignet. 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 1 g Schleimhaut) lösen sofort eine bedeutende Tonussteigerung aus. Der Höhepunkt wird im allgemeinen sofort, manchmal nach kurzen Pausen und kurzen unbedeutenden Tonusnachlassungen erreicht (Abb. 3).

Die spontane Erschlaffung erfolgt, je nach dem Fall, mehr oder weniger schnell. Sie ist langsam und unvollkommen bei besonders empfindlichen Organen, viel rascher aber in anderen Fällen; alsdann zeichnet der Schreibehebel einen spitzen Zacken und sinkt wieder sofort fast bis zum Ausgangsniveau herab. In der Erschlaffungsphase treten oft lebhafte, weite Bewegungen hervor.

Das Spülen mit frischer Tyrodelösung und einige Minuten Ruhe genügen (wenn keine übermäßigen Extraktdosen gebraucht wurden), um die normale Reizbarkeit des Darmes wiederherzustellen. Nach Atropinisierung der Badeflüssigkeit (auf 1 : 1000000) ist die biologische Wirksamkeit der Extrakte ein wenig abgeschwächt, bleibt aber qualitativ unverändert. Bei kleinen Extraktdosen ist es oft unmöglich, irgendeine Verschiedenheit in dem Effekt der vor und nach Atropinzusatz ausgeführten Proben zu schätzen.

Empfindlichkeit des Rattenduodenums und Intensität der Reaktion sind starken individuellen Schwankungen unterworfen.

Die eigene Erfahrung, die nun mehr als 50 Ratten betrifft, zeigte, daß Empfindlichkeit und Dauer der Reizbarkeit oft in Beziehung mit der Dicke und Kräftigkeit des Darmstückes stehen: deshalb reagiert das Duodenum besser als der übrige Dünndarm, und deshalb liefert ein dickes Duodenum fast immer bessere Resultate als ein dünnes.

Um das Organ längere Zeit reizbar zu bewahren, glaube ich, soll die Badetemperatur 38° nicht überschreiten.

Wiederholtes Hinzufügen gleicher Extraktmengen verursacht annähernd gleiche Tonussteigerungen. Ein 20—30%iger Unterschied in der Extraktmenge ist fast immer gut wahrnehmbar; in glücklichen Fällen gelingt es auch, 15%ige und noch kleinere Unterschiede zu schätzen. Manchmal ist aber die Darmreaktion keine befriedigende: ein quantitativer Vergleich zwischen verschiedenen oder verschieden behandelten Extrakten ist natürlich in solchem Falle nicht möglich.

Besonders ungeeignet für die Untersuchung sind jene Darmstücke, die bedeutende spontane Tonusschwankungen zeigen: es ist klar, daß in diesen Fällen das Reaktionsmaß vom Moment des Extraktzusatzes abhängt (dasselbe gilt z. B. auch für Azetylcholinlösungen).

Der Rattendünndarm ist immer den Kaninchenmagenextrakten gegenüber sehr empfindlich. 0,01 ccm des gewöhnlichen Auszuges beeinflussen das Organ immer und deutlich. Auf frische und kräftige Duodenumstücke können sogar 0,01 ccm eines verdünnten Extraktes (1 ccm = 0,1 g Schleimhaut), d. h. der aus 1 mg Schleimhaut erhaltene Extrakt, tonussteigernd wirken! Der Rattendünndarm erschöpft sich ziemlich schnell: bisweilen schon nach 20—30 Minuten., bisweilen nach 60—90 Minuten. Auch gegen große Extraktgaben reagiert in solchem Zustande das Organ unregelmäßig und atypisch.

Darmstücke, die mehr als einige Stunden im Eisschrank aufbewahrt wurden, sind zu verwerfen.

Hier möchte ich erwähnen, daß der Rattendünndarm gegenüber Histamin (nur hohe Dosen wirken tonussteigernd) und gegenüber Adenosinderivaten (ich konnte die Muskeladenylsäure prüfen) fast unempfindlich ist.

Da das Enteramin als ein Di- oder Polyphenolderivat angesehen werden kann, so hielt ich es für angemessen, die Reaktion des Rattendünndarms auf mehrere natürliche oder synthetische Substanzen von der Gruppe der Phenylalkylamine und der Phenylalkanolamine [Guggenheim (11)] zu prüfen.

Es wurden nämlich untersucht: Ephedrin, Sympamin (β-Phenylisopropylamin), Veritol, Supriphen, p-Sympatol, p-Oxyephedrin, m-Oxyephedrin, m-Oxynorephedrin, Tyramin, Tyrosin, Hordenin, Adrenalin, Arterenol, Adrenalon, Homorenon, Dopa, Dioxyephedrin, Dioxynorephedrin, 3-4-Dioxyphenyläthylmethylamin, 3-4-Dioxyphenyläthyldimethylamin, 3-4-Dioxyphenyläthyläthylamin, 3-4-Dioxyphenyläthylpropylamin und 3-4-Dioxyphenyläthylisopropylamin.

Ein Teil der soeben genannten Substanzen ist ohne Einfluß auf den isolierten Rattendünndarm: ein anderer Teil senkt dagegen mehr oder weniger den Tonus und hemmt die spontanen Bewegungen.

Zum Schlusse sei noch daran erinnert, daß der aus der Verdampfung des zur Entfettung der Extrakte angewandten Petroläthers erhaltene Rückstand ohne Einfluß auf den Rattendünndarm ist. Dasselbe gilt auch für den, während der groben Reinigung der Extrakte, durch Aceton gefällten Niederschlag.

b) Mäusedünndarm.

Er reagiert in ganz ähnlicher Weise wie der Rattendünndarm. Der Zartheit des Organs wegen ist übrigens die von kleinen Extraktmengen verursachte Tonuszunahme nicht immer leicht zu schätzen. 0,1 ccm Extrakt (1 ccm = 1 g Schleimhaut) wirken dennoch immer stark tonussteigernd (Abb. 4 A).

c) Kaninchendünndarm.

Unter Einwirkung von 0,1 ccm Extrakt (1 ccm = 5 g Schleimhaut) kommt es an nicht atropinisierten Darmpräparaten zu einer erheblichen, nicht aber dauerhaften Tonuserhöhung. Kleinere Extraktmengen verursachen nur eine Zunahme der Amplitude der Pendelbewegungen.

Nach Atropinisierung der Badeflüssigkeit (auf 1 : 500000) bleibt die erregende Wirkung völlig aus: kleinere Gaben sind alsdann ohne Einfluß, größere (0,2—0,3 ccm) bewirken eine mäßige und durchaus flüchtige Abnahme der Amplitude der Pendelbewegungen (Abb. 5).

d) Katzendünndarm.

0,1—0,2 ccm Extrakt (1 ccm = 5 g Schleimhaut) stimulieren die Tätigkeit des nicht atropinisierten Organes. Kleinere Dosen sind wirkungslos. Nach Atropinzusatz reagiert das Präparat höchstens mit einer unbedeutenden Tonuszunahme.

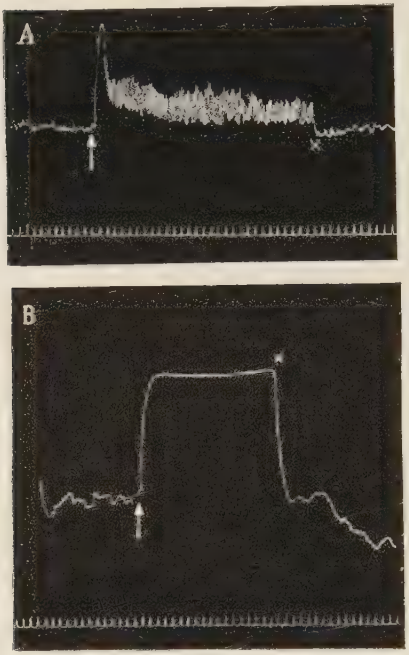


Abb. 4. Wirkung von Kaninchenmagenextrakt auf das atropinisierte Mäuseduodenum (*A*) und auf den atropinisierten Mäuseuterus (*B*).
Bei ↟ 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 1 g Fundusschleimhaut). Zeitzeichen: 10 Sekunden.

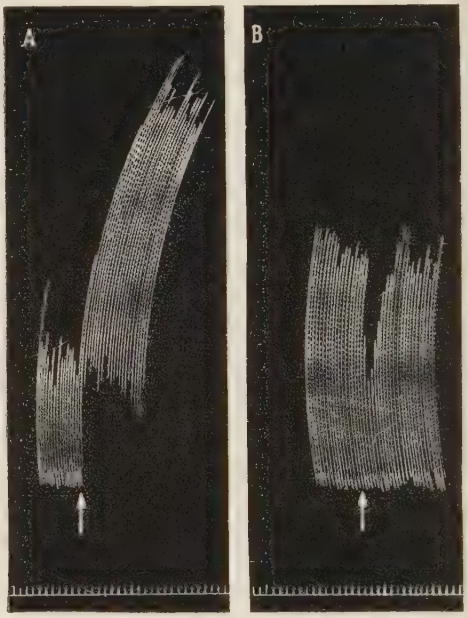


Abb. 5. Wirkung von Kaninchenmagenextrakt auf den Kaninchendünndarm.
A: bei ↟ 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 5 g Fundusschleimhaut). *B*: bei ↟ 0,2 ccm Kaninchenmagenextrakt. Zwischen *A* und *B* Atropinsulfat $^1/_{500\,000}$. Zeitzeichen: 10 Sekunden.

e) Taubendünndarm.

Man benutzte die Duodenalschlinge. 0,1—0,2 ccm Extrakt (1 ccm = 2 g Schleimhaut) fördern immer, manchmal sehr stark, den Tonus. Atropinzusatz schwächt die erregenden Effekte nur unbedeutend ab. Es sei auch darauf hingewiesen, daß auch Schweine- und Kalbsmagenextrakte stark tonussteigernd wirken.

f) Meerschweinchendickdarm.

0,3—0,4 ccm Extrakt (1 ccm = 2 g Schleimhaut) wirken am nicht atropinisierten Organ vorübergehend tonussteigernd. Nach Atropinisierung ist der stimulierende Effekt vollkommen verschwunden: es zeigen sich dagegen hemmende Effekte, die besonders deutlich, wenn spontane Bewegungen vorhanden sind, hervortreten.

Der Meerschweinchendickdarm ist, wie bekannt, äußerst empfindlich gegen Histamin: auch mir gelang es immer, durch 0,01—0,1 ccm Histamin 10^{-6} eine deutliche Tonuszunahme auszulösen. Habe übrigens bemerken können, und dies zeigt noch einmal die hemmende Aktivität der Kaninchenmagenextrakte, daß durch gleichzeitigen Zusatz von Magenextrakt die tonussteigernde Wirkung des Histamins stark abgeschwächt oder auch aufgehoben werden kann. 0,5 γ Histamin + 0,4 ccm Extrakt haben z. B. denselben Einfluß wie 0,1 γ Histamin allein (Abb. 6).

Wegen der Existenz des hemmenden Stoffes ist es natürlich unmöglich, das in den Kaninchenmagenextrakten sicher vorhandene Histamin mittels des Meerschweinchendickdarmobjektes auszuwerten.

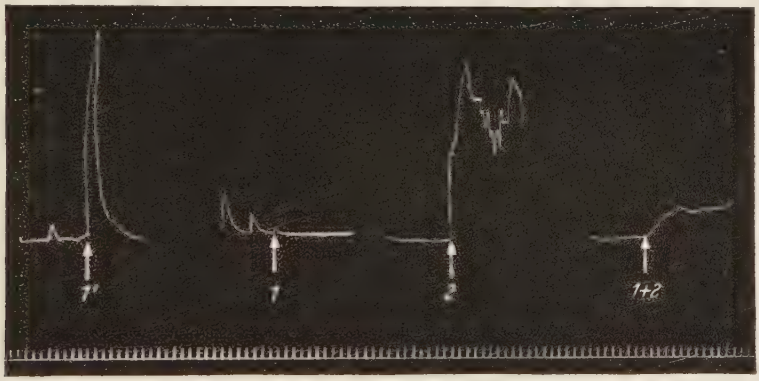


Abb. 6. Wirkung von Kaninchenmagenextrakt und von Histamin auf den Meerschweinchendickdarm. 1′ = 1 = 0,3 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 1 g Fundusschleimhaut). 2 = 0,05 ccm Histamindichlorhydrat 10^{-5}. Zwischen 1′ und 1 Atropinsulfat 10^{-6}. Zeitzeichen: 10 Sekunden.

6. Froschmagen.

0,1—0,2 ccm Extrakt (1 ccm = 4 g Schleimhaut) bewirken vor dem Atropinzusatz eine geringe Tonuszunahme. Nach dem Atropinzusatz sind sie wirkungslos.

7. Uterus.

a) Uterus der Ratte.

Das Organ wurde von mir häufig auch in der schon genannten, über die Extrakte der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris durchgeführten Versuchsreihe benutzt.

Die Ergebnisse, von welchen nun die Rede sein wird, stammen von der Untersuchung von 30 unter den verschiedensten Bedingungen sich befindenden Uteri her. Es handelt sich nämlich um nicht schwangere (in Dioestrus, Prooestrus, Oestrus, Metaoestrus), schwangere (1., 2., 3. Woche) und puerperale (6—24 Stunden, 2—4 Tage nach dem Wurf) Organe.

Die aus der Prüfung eines so mannigfaltigen Materials erhobenen Befunde sind nicht einheitlich gewesen: manchmal reagierte das Uterus-

horn nicht einmal auf 0,5—1 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 1 g Schleimhaut), ein andermal waren auch 100mal kleinere Dosen wirksam.

Unter Einwirkung von ziemlich erheblichen Extraktdosen (z. B. 0,1 –0,2 ccm) kommt es an empfindlichen Uterushörnern zu einer mehr oder weniger ausgeprägten und dauerhaften Tonussteigerung, zugleich auch gewöhnlich zur Erscheinung von lebhaften, rhythmischen Bewegungen. Wenn solche schon spontan vorhanden waren, dann nehmen sie an Frequenz zu (Abb. 7).

Kleinere Dosen (0,01 ccm) wirken kaum tonussteigernd, führen aber immer zur Erscheinung oder zur Verstärkung der Bewegungen.

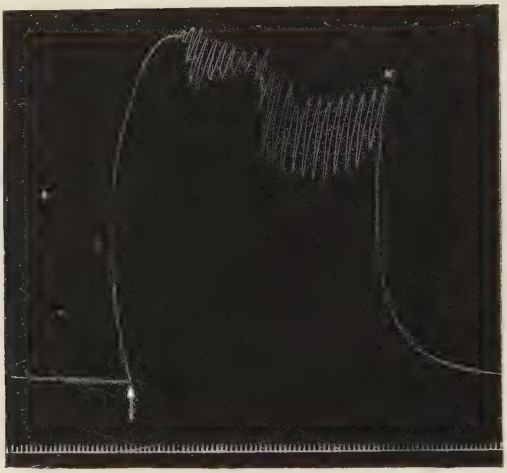


Abb. 7. Wirkung von Kaninchenmagenextrakt auf den Rattenuterus (Brunsttier). Bei ↑ 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 1 g Fundusschleimhaut). Zeitzeichen: 10 Sekunden.

Ich habe schon darauf aufmerksam gemacht, daß die Tonuszunahme, in den Fällen wo es eine solche gibt, mehr oder minder ausgesprochen und beständig sein kann: manchmal ist sie wehenartig und der Schreibehebel steht über dem Ausgangsniveau noch 30—45 Minuten nach dem Zusatz des Extraktes.

Spült man mit frischer Tyrodelösung, so fällt der Tonus sofort herab und die Bewegungen hören auf oder nehmen an Amplitude und Frequenz ab. Nach einer kurzen Pause ist gewöhnlich die normale Reizbarkeit des Organs wiederhergestellt.

Gleiche, zur Suspensionsflüssigkeit zugefügte Extraktmengen verursachen dann eine ungefähr gleich intensive Reaktion. Es entsteht daraus die Möglichkeit, verschiedene oder verschieden behandelte Extrakte miteinander zu vergleichen und so die Wirksamkeit eines bestimmten Extraktes relativ auszuwerten. Man muß sich übrigens begnügen, 20—30%ige Unterschiede schätzen zu können.

Ein empfindliches Uterushorn ist oft imstande, stundenlang gut zu reagieren und so eine lange Beobachtungsreihe zu erlauben. Manchmal dagegen erschöpft sich das Organ viel schneller, so daß quantitative Vergleiche nicht ausführbar sind.

Auch im Eisschrank für 12—24 Stunden aufbewahrte Uterushörner können oft gute Resultate liefern.

Wie schon früher gesagt, besteht oft unter den verschiedenen Uteri ein sehr starker Unterschied in der Empfindlichkeit den Kaninchenmagenextrakten gegenüber. Ich bemühte mich, diese Tatsache zu erklären.

Zuerst wurde das Verhalten des Uterus bei den verschiedenen Phasen des Sexualzyklus in Betracht gezogen.

Es ergab sich, daß das Stadium, in welchem fast immer der Uterus ausgezeichneterweise empfindlich ist, mit dem Oestrusstadium zusammen-

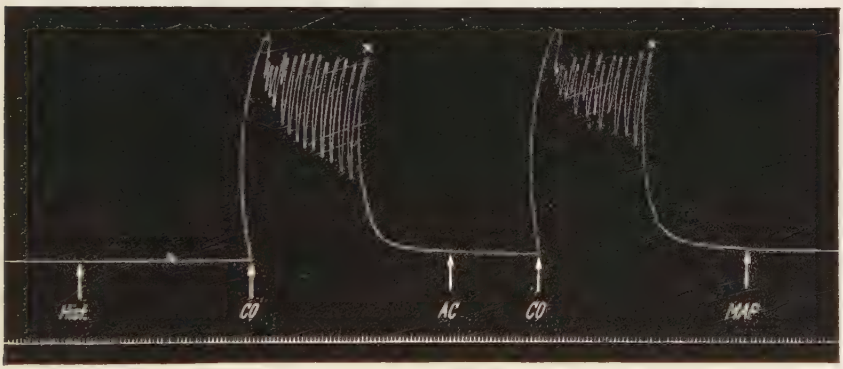


Abb. 8. Wirkung von Histamin, Azetylcholin, Muskeladenosinphosphorsäure und Kaninchenmagenextrakt auf den atropinisierten Rattenuterus (Brunsttier).
Hist. = 0,1 ccm Histamindichlorhydrat 10^{-3}.
AC = 0,1 ccm Azetylcholinbromid 10^{-4}.
MAP = 0,1 ccm Muskeladenosinphosphorsäure 10^{-3}.
CO = 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 1 g Fundusschleimhaut).
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

fällt. Im Oestrus sind, wie bekannt, die Uterushörner vergrößert, hyperämisch, zum Teil mit Sekret strotzend gefüllt; beim Durchschneiden fließt reichliches Sekret ab. Im Dioestrus ist das Organ immer unempfindlich oder sehr wenig empfindlich; für das Prooestrus und Metaoestrus genügt meine bisherige Erfahrung nicht, um mir zu erlauben, endgültige Schlüsse zu ziehen.

In Zusammenhang mit den nun erörterten Empfindlichkeitsschwankungen des Uterus in den verschiedenen Phasen des Sexualzyklus darf die von mir gemachte Beobachtung gebracht werden, daß während der Wintermonate empfindliche Uteri selten zu treffen sind, und daß sich dagegen der Prozentsatz von solchen Organen im Frühling und Sommer stark erhöht.

Was das Benehmen des Uterus während der Schwangerschaft und sofort nach der Geburt betrifft, so konnte ich bemerken, daß die in der 1. Schwangerschaftshälfte fehlende oder sehr geringe Empfindlichkeit, später (3. Woche) deutlicher hervortritt und daß dieselbe oft auch in den ersten Tagen nach dem Wurf anhält.

Zur Untersuchung von Kaninchenmagenextrakten sind also ganz besonders brünstige Uteri zu empfehlen. Das Oestrusstadium ist leicht durch eine einfache mikroskopische Durchmusterung eines Scheidenabstriches zu erkennen (Schollen); nach der Tötung des Tieres wird der Uterus- und Ovarialbefund die Oestrusdiagnose bekräftigen.

Zum Schlusse sei es erwähnt, daß Histamin [Guggenheim (10)] Adrenalin und Tyramin auf den Rattenuterus erschlaffend wirken und daß die Muskeladenosinphosphorsäure (*MAP* Henning und Adenil Erba), wenigstens bei den von mir angewendeten Dosen (1—300 γ), ohne Einfluß auf den Tonus und auf die Bewegungen des Rattenuterus ist (Abb. 8).

b) Uterus der Maus.

Die wenigen von mir geprüften nicht schwangeren Uteri erwiesen sich den Kaninchenmagenextrakten gegenüber als wenig empfindlich oder als unempfindlich. Ausgezeichnete Resultate erhielt ich dagegen mit einem 4 Tage nach dem Wurf ausgeschnittenen Organ. Der Zusatz von 0,1 ccm Extrakt (1 ccm = 1 g Schleimhaut) war in diesem Falle immer imstande, eine wehenartige Tonuszunahme auszulösen, unter vollkommenem Aufhören der Spontanbewegungen (Abb. 4 B).

Durch Auswaschen mit frischer Nährlösung wurde auch hier der normale Zustand schnell wiederhergestellt.

Auch 0,01 ccm Extrakt zeigten eine deutliche Wirkung.

c) Uterus des Kaninchens.

Zwei nicht schwangere Uteri und ein schwangerer wurden geprüft. Das atropinisierte Organ erwies sich auch hohen Extraktdosen gegenüber als unempfindlich.

d) Uterus des Meerschweinchens.

Einige an nicht schwangeren Organen durchgeführte Versuche zeigten, daß nur ziemlich hohe Extraktdosen (0,2—0,4 ccm; 1 ccm = 2 g Schleimhaut) den Tonus mehr oder weniger steigern.

e) Uterus des Menschen.

Herr Prof. Gaifami (Vorstand der gynäkologisch-obstetrischen Klinik der Universität Rom), dem ich hier meinen besten Dank aussprechen möchte, stellte mir Streifen aus drei menschlichen Uteri und aus einer menschlichen Tube zur Verfügung.

Der erste Streifen wurde aus einem wegen Endometritis entfernten Organ ausgeschnitten; der zweite aus einem fibromkranken Organ; der dritte endlich, gelegentlich eines Kaiserschnittes, aus einem normalen schwangeren Organ. Die Tube sah normal aus, sie war mit dem entsprechenden fibromkranken Uterus entfernt worden.

Alle von mir untersuchten Organe reagierten, mit Tonuszunahme und mit Erscheinung oder Verstärkung der Bewegungen, nur auf hohe Extraktdosen (0,1—0,4 ccm; 1 ccm = 5 g Schleimhaut).

Etwas lebhafter schien die Reaktion des schwangeren Uterus zu sein: 0,3—0,4 ccm Extrakt wirkten gleich stark tonussteigernd wie 0,1 ccm Histamin 10^{-5}.

Kontrollversuche.

Von den vorigen Versuchsergebnissen scheinen mir besonders wichtig diejenigen zu sein, die beim Rattendünndarm und beim Rattenuterus erhalten worden sind (die Reaktion der Mäuseorgane gleicht, wie gesagt, jener der Rattenorgane).

Der Extrakt der Kaninchenmagenfundusschleimhaut wirkt auf solche Organe, immer auf den Dünndarm, unbeständig auf den Uterus, stark und charakteristisch erregend.

Welchem Stoff ist solcher Effekt zuzuschreiben?

Im folgenden Teil dieser Arbeit habe ich mich bemüht, diese Frage durch eine Reihe von Kontrollversuchen zu beantworten. Es wurde demnach eine große Anzahl von enteraminhaltigen oder enteraminfreien (Vialli und Erspamer) Organ- und Gewebeextrakten studiert.

Durch eine erste Versuchsserie wurden Schleimhautextrakte geprüft, die aus verschiedenen Regionen des Kaninchenmagens und aus Magen und Därmen von einigen anderen Säugetieren hergestellt worden waren. In solchen Organen ist bekanntlich das System der enterochromaffinen Zellen verbreitet und das Enteramin vorhanden.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden dann zahlreiche enteraminfreie Auszüge geprüft, die aus Geweben und Organen ohne enterochromaffine Zellen herstammten.

Absichtlich habe ich hier versäumt, die Milzextrakte in Betracht zu ziehen, obwohl auch solche, wie es aus den von mir (6) durchgeführten chemischen und biologischen Untersuchungen hervorgeht, Enteramin oder einen enteraminähnlichen Stoff enthalten. Darüber wird die Rede in einer besonderen Mitteilung sein.

Das in den vorliegenden Kontrollversuchen vorgezogene Testobjekt ist, seiner ausgezeichneten und konstanten Empfindlichkeit wegen, das atropinisierte Rattenduodenum gewesen. Weniger oft ist auch der brünstige Uterus desselben Tieres benutzt worden.

Die verschiedenen Extrakte wurden gegen angemessen verdünnte Kaninchenmagenextrakte titriert.

Die biologische Wirksamkeit eines Extraktes wurde am Ausschlag des Hebels bei der Darmkontraktion gemessen.

Die Wirksamkeit des aus 1 g Kaninchenmagenfundusschleimhaut gewonnenen Extraktes ist willkürlich mit 100 bezeichnet worden, die der aus 1 g von den anderen Geweben und Organen gewonnenen Extrakte ist, in bezug auf den soeben festgestellten Wert, prozentisch ausgedrückt worden.

Die erhaltenen Werte sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengefaßt.

Tabelle 1.

Acetonextrakte	Intensität der Diazoreaktion nach Gebuer-Fulnegg	Intensität der erregenden Wirkung auf den	
		atropinisierten Rattendünndarm	atropinisierten Rattenuterus
Kaninchen			
Schleimhaut der Magenfundusregion	100	100	100
Schleimhaut der Pylorusregion	10–15	10	10
Magenmuskulatur	< 5	< 1	
Schwein			
Magenschleimhaut	< 30	20–25	18–20
Hundskopf (Cynocephalus amadryas)			
Magenschleimhaut	75	70	70–80
Schaf			
Abomasusschleimhaut	50	50	50
Duodenalschleimhaut	< 10	5–7	8
Kalb			
Abomasusschleimhaut	< 20	15–20	10–15
Duodenalschleimhaut	> 60–70	85–90	90

Es sei bemerkt, daß die in den Tabellen verzeichneten Zahlen nur annähernd sind, und daß sie nur die relativen Werte der biologischen Tätigkeit andeuten wollen, unabhängig von den Stoffen, denen die Tätigkeit selbst zugeschrieben werden soll.

Aus der Mannigfaltigkeit der Extrakte geht hervor, daß es sich auch um mehrere zum Teil vielleicht noch unbekannte Stoffe handeln kann.

Um leichte Vergleiche zwischen den nun mit den biologischen Methoden erhaltenen Befunden und den von Vialli und mir mittels chemischer Farbreaktionen durchgeführten Enteraminbestimmungen zu erlauben, sind in der Tabelle 1 auch die Prozentwerte von der Intensität der Diazoreaktion angegeben. Die Reaktion ist nach dem Verfahren von Gebauer-Fulnegg durchgeführt worden und nur die Intensität der vom Amylalkohol extrahierten Farbe ist in Betracht gezogen worden.

Was die in der Tabelle 2 verzeichneten Extrakte betrifft, so soll noch einmal betont werden, daß es Vialli und mir darin nicht gelungen

Tabelle 2.

Acetonextrakte	Intensität der erregenden Wirkung auf den atropinisierten Rattendünndarm
Schleimhaut der Magenfundusregion	
Kaninchen	100
Leber	
Rind	< 2
Kaninchen	< 2
Ratte	< 1
Katze	< 2
Taube	< 1
Pankreas	
Rind	< 3
Hund	hemmende Wirkung
Esel	< 2
Lunge	
Rind	< 4
Kaninchen	< 4
Pferd	< 2
Katze	< 2
Herz	
Kaninchen	< 2
Pferd	< 2
Katze	< 1
Niere	
Ratte	hemmende Wirkung
Kaninchen	0
Pferd	0
Katze	hemmende Wirkung
Gehirn	
Kaninchen	< 2
Katze	< 2
Quergestreifte Muskulatur	
Ratte	< 1
Katze	< 1
Nebennieren	
Rind	hemmende Wirkung
Pferd	hemmende Wirkung
Ovarium	
Rind	< 2
Hoden	
Rind	< 1
Ratte	< 1
Schilddrüse	
Pferd	< 2
Rind	< 2
Blut	
Rind	< 1
Pferd	0
Lymphdrüse	
Rind	< 2
Rotes Knochenmark	
Rind	< 2
Gelbes Knochenmark	
Rind	< 1
Milchdrüse	
Rind	< 1
Placenta	
Mensch	< 2

ist, mittels chemischer Farbreaktionen bestimmbare Mengen von Enteramin aufzufinden.

Die vorliegenden Kontrollversuche erlauben einige Schlußfolgerungen zu ziehen:

1. Nur die Magen- und Darmschleimhautextrakte zeigen, unter allen geprüften Extrakten, eine erregende Wirkung auf den atropinisierten Rattendünndarm und auf den atropinisierten Rattenuterus (Abb. 9).

2. Die biologische Wirksamkeit der Magen- und Darmschleimhautextrakte steht, wie aus der Tabelle 1 hervorgeht, in engem Zusammenhang mit ihrem Enteramingehalt. Auf die Wichtigkeit solcher Feststellungen werde ich im nächsten Kapitel eingehender zurückkommen.

Hier möchte ich noch klarstellen, daß die von sämtlichen nicht aus der Magendarmschleimhaut gewonnenen Extrakten ausgelöste Tonus-

steigerung nicht nur enorme quantitative Unterschiede von der durch Kaninchenmagenextrakte verursachten Tonuszunahme aufweist, sondern auch merkwürdige qualitative Unterschiede.

Für die Lungen-, Herz-, Leberextrakte usw. ist z. B. die Tonuserhöhung oft nicht eine sofortige, und gewöhnlich verläuft sie stufenweise und hält längere Zeit an; überdies geht ihr machmal, ähnlich wie bei Histaminzusätzen, eine kurze hemmende Phase voraus. Das ist nicht der Fall bei den Kaninchenmagenextrakten: diese lösen eine sofortige, den Höhepunkt schnell erreichende und im allgemeinen, besonders wenn es um sich kleine Extraktmengen handelt, nicht anhaltende Tonuszunahme aus.

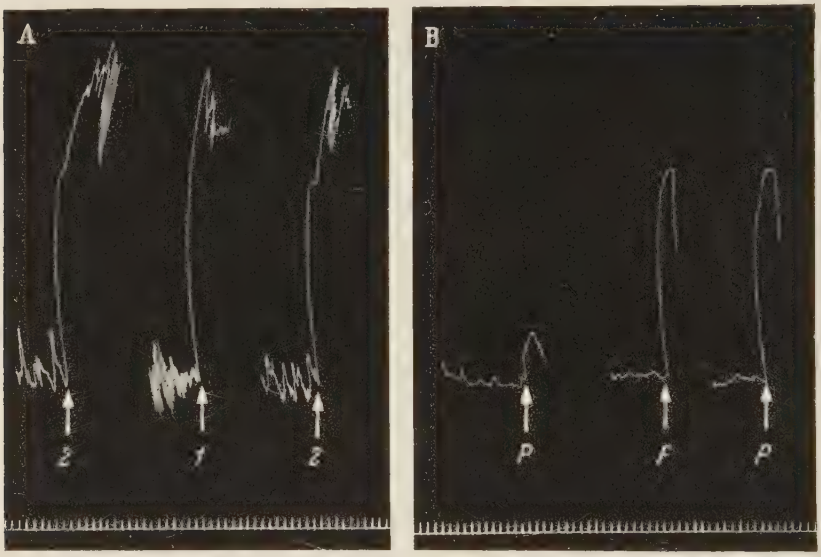


Abb. 9. Atropinisiertes Rattenduodenum.
1 = 0,05 ccm Kaninchenmagenextrakt (1 ccm = 1 g Fundusschleimhaut).
2 = 0,2 ccm Schweinemagenschleimhaut (1 ccm = 1 g Schleimhaut).
P = 0,1 ccm (links) und 0,4 ccm (rechts) Kaninchenmagenextrakt (Pylorusschleimhaut: 1 ccm = 1 g Schleimhaut).
F = 0,04 ccm Kaninchenmagenextrakt (Fundusschleimhaut: 1 ccm = 1 g Schleimhaut).
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

Alles dies rechtfertigt den von mir früher gemachten Vorbehalt über die Vergleichbarkeit der mit verschiedenen Extrakten erhaltenen biologischen Effekte. Es ist wahrscheinlich, daß die unbedeutende, auf den Rattendünndarm von seiten der verschiedensten Extrakte ausgelöste erregende Wirkung keineswegs jenem Wirkstoff zuzuschreiben ist, der in den Magen- und Darmschleimhautextrakten tätig ist.

Man soll nicht mit Stillschweigen übergehen, daß die Extrakte mancher Organe auf den Tonus und auf die Bewegungen des Rattendünndarms hemmend wirken: das wurde für sämtliche Nebennierenextrakte, für mehrere Nierenextrakte und auch für einen Pankreasextrakt beobachtet.

Erörterung der Befunde.

1. Aus den in vorliegender Arbeit mitgeteilten Versuchsergebnissen geht hervor, daß die Acetonextrakte der Kaninchenmagenfundusschleimhaut auf die verschiedenen in Betracht gezogenen Testobjekte mannigfaltig einwirken.

Vor dem Atropinzusatz ist die Wirkung eine erregende auf den Tonus und die Spontanbewegungen des Ratten-, Mäuse-, Tauben-, Katzen- und Kaninchendünndarms; auf den Tonus und die Bewegungen des Meerschweinchendickdarms, des Froschmagens, des menschlichen Uterus und des Uterus der Ratte, der Maus und des Meerschweinchens; auf den Tonus endlich des Froschrektus und des Blutegelmuskels. Auf den Blutdruck des Kaninchens und, weniger, der Katze, wirkt der Extrakt senkend; auf das Froschherz ist die Wirkung eine negativ inotrope und negativ chronotrope.

Nach Atropinisierung des Tieres (bei den Blutdruckversuchen) oder der überlebenden ausgeschnittenen Organe bleibt die erregende Wirkung auf den Ratten-, Mäuse- und Taubendünndarm, auf den menschlichen Uterus und auf solchen der Ratte, der Maus und des Meerschweinchens fast unverändert. Dasselbe darf auch für die blutdrucksenkende Wirkung gesagt werden.

Die tonussteigernde, erregende Wirkung auf den Katzen- und Kaninchendünndarm, auf den Froschmagen, auf den Froschrektus und auf den Blutegelmuskel ist dagegen völlig verschwunden; manchmal zeigen sich sogar entgegengesetzte hemmende Effekte. Solche treten besonders deutlich beim Kaninchendünndarm und beim Meerschweinchendickdarm hervor.

Auch die negativ inotrope und negativ chronotrope Wirkung auf das Froschherz wird durch Atropinzusatz aufgehoben; oft wird sie sogar von einer mäßigen positiv inotropen Wirkung ersetzt.

2. Man darf wohl annehmen, daß sämtliche atropinempfindlichen Effekte dem sicher in meinen Extrakten, wie übrigens in fast allen Organextrakten, vorhandenen Azetylcholin zuzuschreiben sind.

Die übereinstimmenden, auf den sensibilisierten Froschrektus und auf den sensibilisierten Blutegelmuskel durchgeführten Auswertungen beweisen, daß der aus 1 g Schleimhaut gewonnene Extrakt ungefähr 0,8—1 γ Azetylcholin enthält.

3. Wir haben gesehen, daß die Kaninchenmagenextrakte selbst nach Atropinzusatz den Dünndarm der Taube, den Uterus und die Tuben des Menschen und den Uterus des Meerschweinchens kontrahieren.

Die vorliegenden Versuche erlauben keine Schlüsse über die Natur und noch weniger über die Menge der vorhandenen Wirkstoffe zu ziehen. Man darf doch mit Grund annehmen, daß es sich hauptsächlich um Histamin handelt, allein oder zusammen mit anderen in den Magendarmextrakten

aufgefundenen Substanzen (Substanz *P* von Euler und Gaddum, Substanz von Felix und Lange usw.).

Gegenwärtig sind wir auch nicht besser über die Natur des Stoffes oder der Stoffe unterrichtet, denen die positiv inotrope Wirkung auf das atropinisierte Froschherz und die hemmenden Einflüsse auf den atropinisierten Kaninchen- und Meerschweinchendarm zuzuschreiben sind; obwohl für die zuletzt genannten Effekte das Zugegensein von Substanzen der Adenosingruppe möglich scheint.

Auch die Natur der in unseren Extrakten vorhandenen blutdrucksenkenden Substanz ist nicht näher bekannt. Manche Befunde, vor allem diejenigen, die bei der vergleichenden Prüfung von Magenextrakten verschiedener Herkunft erhoben worden sind, machen es doch wahrscheinlich, daß der blutdrucksenkende Effekt jenem Wirkstoff zuzuschreiben ist, von dem gerade in den nächsten Paragraphen die Rede sein wird.

4. Es bleibt nunmehr die wichtigste und am meisten charakteristische Wirkung von unseren Kaninchenmagenextrakten zu besprechen. Es handelt sich um die erregende Wirkung auf den Rattendünndarm und auf den Rattenuterus (die entsprechenden Organe der Maus verhalten sich ganz ähnlich).

Um über sämtliche zu einer nützlichen Erörterung notwendigen Elemente verfügen zu können, halte ich es für angezeigt, zuerst die wichtigsten der schon bekannten darm- bzw. uterusaktiven Gewebsprodukte einer schnellen Durchmusterung zu unterwerfen, um zu sehen, was für eine Wirkung dieselben auf die nun erwähnten Ratten- und Mäuseorgane auslösen und wodurch sich solche Wirkung von jener der Kaninchenmagenextrakte unterscheidet.

Das Azetylcholin ist auf den nicht atropinisierten Rattendünndarm sehr wirksam; viel weniger auch auf den Rattenuterus. Da aber die tonussteigernde Wirkung der Kaninchenmagenextrakte atropinfest ist, so kann in unserem Falle das Azetylcholin nicht in Betracht gezogen werden.

Das Histamin ist völlig außer Rede für den Rattenuterus, denn auf dieses Organ wirkt sie hemmend. Der Rattendarm wird dagegen durch Histamin kontrahiert, nur aber durch solche Dosen, die sicher in meinen Extrakten nicht vorhanden sind. Man braucht nur zu betrachten, daß 0,1 ccm Extrakt (1 ccm davon entspricht 1 g Schleimhaut und läßt nach der Verdampfung einen 3 mg schweren Rückstand zurück) viel stärker tonussteigernd wirken als 0,1 ccm Histamin $^1/_{1000}$!

Die Adenosinderivate sind ihrer unbedeutenden oder schwach hemmenden Wirkung wegen auszuschließen.

Auch Adrenalin und Tyramin hemmen, in scharfem Gegensatz zur erregenden Wirkung der Kaninchenmagenextrakte, den Tonus und die Spontanbewegungen der Rattenorgane.

Die Substanz *P* von Euler und Gaddum (7) wirkt auf den atropinisierten Rattendünndarm und auf den atropinisierten Rattenuterus schwach

erregend (im Gegensatz zu unseren Kaninchenmagenextrakten, die dieselben Organe stark kontrahieren), wirkt dagegen stark erregend auf den atropinisierten Kaninchendünndarm (im scharfen Gegensatz zu unseren Magenextrakten, die dasselbe Organ hemmen). Schon aus dem Gesagten geht hervor, daß die Substanz *P* mit der aktiven Substanz der Kaninchenmagenextrakte nichts zu tun hat.

Dieser Schluß wird dadurch bestätigt, daß v. Euler (7) für die Herstellung von an Substanz *P* reichen Extrakten Gewebe hervorzieht (Gehirn, Darmmuskulatur), die bei meinen Kontrollversuchen keine auf den Rattendarm und auf den Rattenuterus wirksamen Extrakte lieferten.

Aus ähnlichen Gründen ist es auch möglich, viele andere wirksame Gewebsprodukte von der aktiven Substanz der Kaninchenmagenextrakte abzugrenzen.

Man braucht diesbezüglich nur zu betrachten, daß die letztgenannte Substanz nur in Milz-, Magen- und Darmextrakten und nicht in anderen Organ- und Gewebeextrakten vorhanden ist, daß im Gegenteil alle anderen Wirkstoffe vorzüglich oder ausschließlich außerhalb der Milz und des Magendarmkanals zu finden sind (Prostaglandin, Vesiglandin, Renin, Kallikrein, Linfoganglin, Vagotonin, Felix-Lange-Stoff, Substanz *Dk* von Werle usw.).

5. Alles rechtfertigt die Annahme, daß die von mir mit den Extrakten der Kaninchenmagenfundusschleimhaut auf den atropinisierten Rattendünndarm und auf den atropinisierten Rattenuterus erhaltenen Effekte mindestens hauptsächlich dem Enteramin zuzuschreiben sind, d. h. dem von Vialli und mir in denselben Extrakten mittels chemischer Farbreaktionen entdeckten Di- oder Polyphenolderivat.

Eine solche Annahme wird schon durch die Ergebnisse der von Vialli und mir (5, 19) über die Acetonextrakte der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris durchgeführten Untersuchungen gestützt.

In den Octopusextrakten ist es uns nämlich gelungen, auch diesmal zuerst mittels chemischer Farbreaktionen ein Di- oder Polyphenolderivat zu charakterisieren, das entweder mit dem Enteramin zu identifizieren ist, oder dem Enteramin sehr nahesteht.

Nun wohl: biologisch verhalten sich diese Octopusextrakte fast gleich wie die Kaninchenmagenextrakte, und es gelang mir festzustellen, daß der am meisten charakteristische Effekt von ihnen (starke erregende Wirkung auf den atropinisierten Rattendünndarm) ausschließlich dem enteraminähnlichen Di- oder Polyphenolderivat zu verdanken ist.

Die wichtigste Probe aber, daß die aktive Substanz der Kaninchenmagenextrakte eigentlich mit dem Enteramin zu identifizieren ist, entspringt aus meinen oftmals erwähnten Kontrollversuchen. Daraus ergab sich folgendes:

a) Alle enteraminhaltigen und nur die enteraminhaltigen Extrakte zeigen den charakteristischen erregenden Effekt auf den Tonus und auf

die Spontanbewegungen des Rattendünndarms und des Rattenuterus. Die Intensität der biologischen Wirkung steht immer in engem Zusammenhang mit dem durch chemische Farbreaktionen festgestellten Enteramingehalt.

b) Sämtliche enteraminfreien Extrakte sind auf den Rattendünndarm fast wirkungslos. Die unbedeutende erregende Wirkung, die oft bei Anwendung von konzentrierten enteraminfreien Extrakten verschiedener Herkunft zu beobachten ist, unterscheidet sich auch qualitativ von jener der Kaninchenmagenextrakte.

6. Der atropinisierte Rattendünndarm und der atropinisierte Rattenuterus (letzter jedoch mit Beständigkeit nur bei Brunsttieren) können, eventuell gemeinsam mit den entsprechenden Organen der Maus, als ausgezeichnete Testobjekte für den Beweis und für die Auswertung des Enteramins angesehen werden. Rattendünndarm und Rattenuterus sind unserer Beachtung wert sowohl vom Standpunkt der Spezifität als auch von jenem der Empfindlichkeit aus: hier möchte ich erinnern, daß die aus 1 cg Kaninchenmagenschleimhaut gewonnene Extraktmenge immer deutlich tonussteigernd wirkt und daß, bei empfindlichen Organen, dasselbe Resultat zu erzeugen ist, auch wenn man der Badeflüssigkeit (8 ccm) nur die aus 1 mg Schleimhaut erhaltene Extraktmenge hinzufügt.

7. Man soll natürlich nicht vergessen, daß in allen rohen Organ- oder Gewebeextrakten im allgemeinen mehrere Wirkstoffe enthalten sind, und daß diese auf das eventuell vorhandene Enteramin verschiedenartig einwirken können. Es ergibt sich daraus die Notwendigkeit einer besseren differentialen Charakterisierung des Enteramins.

Ich hoffe, daß die in der nächsten Mitteilung erscheinenden Versuche einen nicht unwesentlichen Beitrag zur Lösung solcher Probleme bringen werden.

Zusammenfassung.

1. Unter den mannigfachen von den Kaninchenmagenextrakten auf die zahlreichen in Betracht gezogenen Testobjekte entfalteten biologischen Wirkungen sind ganz besonders unserer Beachtung wert die erregende Wirkung auf den atropinisierten Ratten- und Mäusedünndarm und auf den atropinisierten Ratten- und Mäuseuterus, und die senkende Wirkung auf den Blutdruck des atropinisierten Kaninchens. Auf Grund umfangreicher Kontrollversuche darf man schließen, daß die darm-, uterus- und kreislaufwirksame Substanz der Kaninchenmagenextrakte mit dem in denselben Extrakten von Vialli und Verfasser mittels chemischer Farbreaktionen nachgewiesenen Di- oder Polyphenolderivat (Enteramin) zu identifizieren ist.

2. Die neue aktive Substanz kann von allen anderen bekannten Wirkstoffen (Azetylcholin, Histamin, Adenosinverbindungen, Tyramin,

Adrenalin, Substanz *P* von Euler und Gaddum usw.) einwandfrei abgegrenzt werden.

3. Das Enteramin ist in allen untersuchten Magendarmschleimhautextrakten vorhanden. In keinem anderen Gewebs- oder Organauszuge (mit Ausnahme der Milzauszüge) konnte es in bestimmbarer Menge nachgewiesen werden.

4. Das Enteramin ist ausschließlich in der Schleimhaut lokalisiert; in der Muskelschicht fehlt es vollkommen. Die Magenfundusregion ist beim Kaninchen daran viel reicher als die entsprechende Pylorusregion.

5. Auf Grund seiner großen Empfindlichkeit und seiner bedriedigenden Spezifität darf der atropinisierte Rattendünndarm als ein sehr geeignetes Testobjekt zum Studium des Enteramins angesehen werden. Ausgezeichnete Resultate liefert auch, unter gewissen Umständen, der atropinisierte Rattenuterus.

Literatur.

1) Ciaccio, C.: Arch. ital. Anat. **6** (1907). — 2) Clara, M.: Erg. Anat. **30** (1933) — 3) Cordier, R.: Arch. Biol. (Fr.) **36** (1926). — 4) Erspamer, V.: Boll. Soc. med.-chir. Pavia **51** (1937). — 5) Erspamer, V.: Arch. Sci. biol. (It.) **26** (1940). — 6) Erspamer, V.: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **15** (1940). — 7) Euler, U. S. v.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181** (1936). — 8) Feyrter, F.: Erg. Path. **28** (1934); Über diffuse endokrine epitheliale Organe. Leipzig, Johann Ambrosius Barth, 1938. — 9) Feyrter, F., u. K. Unna: Virchows Arch. **298** (1936). — 10) Guggenheim, M.: Biochem. Z. **51** (1913). — 11) Guggenheim, M.: Die biogenen Amine. Berlin, Jul. Springer, 1924. — 12) Hamperl, H.: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **2** (1925); Virchows Arch. **266** (1927); **286** (1932). — 13) Kull, H.: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **2** (1925). — 14) Lison, L.: Arch. Biol. (Fr.) **41** (1931); Histochimie animale. Paris, Gauthier-Villars, 1936. — 15) Masson, P.: Ann. Anat. path. **1** (1924); Amer. J. Path. **4** (1928); **6** (1930). — 16) Vialli, M., e V. Erspamer: Z. Zellforsch. usw. **19** (1933). — 17) Vialli, M., e V. Erspamer: Arch. ital. Anat. **37** (1936). — 18) Vialli, M., e V. Erspamer: Boll. Soc. med.-chir. Pavia **51** (1937). — 19) Vialli, M., e V. Erspamer: Arch. di Fisiol. **40** (1940). — 20) Vialli, M., u. V. Erspamer: Biochem. Z. (im Druck).

Aus dem Pharmakologischen Institut der kgl. Universität Rom.
(Vorstand: Prof. Dr. Pietro Di Mattei.)

Pharmakologische Studien über Enteramin.

II. Mitteilung: Über einige Eigenschaften des Enteramins, sowie über die Abgrenzung des Enteramins von den anderen kreislaufwirksamen Gewebsprodukten.

Von

Vittorio Erspamer.

Mit 8 Textabbildungen (10 Einzelbildern).

(Eingegangen am 15. Juli 1940.)

I. Einleitung.

In einer früheren Mitteilung konnte ich beweisen, daß in den Acetonextrakten von Magendarmschleimhaut (und ganz besonders in den Schleimhautextrakten der Kaninchenmagenfundusregion) eine Substanz vorhanden ist, die stark erregend auf den atropinisierten Rattendünndarm und auf den atropinisierten Rattenuterus einwirkt. Auf Grund zahlreicher an Extrakten von verschiedenen Organen und Geweben durchgeführter Versuche konnte ich schließen, daß die aktive Substanz mit dem Enteramin zu identifizieren war, d. h. mit dem von Vialli und mir (32) in denselben Magendarmextrakten mittels chemischer Farbreaktionen aufgefundenen Di- oder Polyphenolderivat. Bei der Besprechung meiner früheren Ergebnisse bestand ich auf der Notwendigkeit von weiteren Untersuchungen, die eine schärfere Abgrenzung des Enteramins von den zahlreichen anderen in Gewebeextrakten entdeckten Wirkstoffen ermöglichten. Das ist das wichtigste Ziel, das ich mir in der gegenwärtigen Versuchsreihe gesteckt habe. Nicht aber das einzige: denn ich bemühte mich auch, weitere Beweise zugunsten der Identifizierbarkeit der uterusaktiven und darmaktiven Substanz mit dem Enteramin zu bringen und neue Daten zur besseren Kenntnis der chemischen Konstitution des Enteramins zu schaffen.

Die hier zur chemischen und biologischen Charakterisierung der Magenschleimhautextrakte von Kaninchen und, seltener, von anderen Tieren benutzte Methodik (Behandlung mit Alkali, mit Säure, mit Kaliumjodat usw.) entspricht derjenigen, die gewöhnlich bei ähnlichen Versuchen über wirksame Gewebsprodukte von den Verfassern [Gaddum (15), v. Euler (10, 11, 12), Werle (33, 34, 35), Felix (14) und Lange (27) usw.] angewendet wird.

Solche Forschungsmethodik ist übrigens mir selbst nicht neu, da ich mir derselben schon zum Studium der Acetonextrakte von Octopus vulgaris mit Erfolg bediente (9).

Die nun untersuchten Extrakte sind dieselben, die schon bei den früheren Versuchen über Enteramin benutzt worden sind. Kleine Mengen des in Acetonalkohol gelösten aktiven Trockenrückstandes sind, wie immer, gerade vor dem Gebrauch zur Trockne verdampft worden (im Vakuum und unter 40°).

Die nach den verschiedenen Behandlungen ausgeführten Versuche sind immer vielfach gewesen: die nun zu beschreibenden Ergebnisse sind demnach immer wiederholt kontrolliert worden.

Hier sei noch ausdrücklich betont, daß alle folgenden Untersuchungen sich auf noch sehr rohe Extrakte beziehen, und daß es deswegen fraglich ist, ob alle aus dem Studium solcher Extrakte abgeleiteten Schlüsse ohne weiteres auch für das reine Enteramin als gültig angesehen werden können.

II. Versuchsergebnisse.

1. Behandlung mit Säure und mit Alkali.

Mehrere Fraktionen des Trockenrückstandes, entsprechend 8 g Kaninchenmagenschleimhaut, werden in Reagensgläsern mit 4 ccm dest. Wasser bzw. 4 ccm n HCl, 4 ccm 0,1 n HCl und 4 ccm n NaOH versetzt.

Einige Fraktionen werden auf dem siedenden Wasserbad 60 Minuten gekocht, andere 20 Minuten, noch andere endlich werden 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehenlassen.

Nach der Behandlung werden alle Flüssigkeiten sofort mit NaOH bzw. mit HCl neutralisiert (Indikator: Bromthymolblau) und dann mit dest. Wasser auf 8 ccm gebracht (1 ccm = 1 g Schleimhaut).

Die Ergebnisse der am atropinisierten Rattendünndarm durchgeführten Versuche (ganz ähnliche Resultate sind auch am atropinisierten Rattenuterus erhalten worden) sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 1.

	Aktivität in % nach		
	20 Min. bei 100°	60 Min. bei 100°	24 Std. bei Zimmertemp.
n NaOH	140—160	120	130—140
Dest. Wasser	100	100	100
0,1 n HCl	90—100	70—85	—
n HCl	50—70	25—40	60

Es ist zu erwähnen, daß die Flüssigkeiten nach Säurebehandlung rötlich und nach Alkalibehandlung gelb-bräunlich gefärbt erscheinen.

Man darf aus den in der Tabelle 1 angegebenen Werten folgendes schließen:

a) Die biologische Aktivität des in dest. Wasser aufgenommenen Rückstandes bleibt auch nach 1stündigem Kochen unverändert.

b) Durch Behandlung mit n NaOH, bei 100° oder bei Zimmertemperatur, wird die Wirksamkeit der Extrakte bedeutend gesteigert (Abb. 1).

c) Unter den gleichen Bedingungen schwächt die Behandlung mit Salzsäure mehr oder weniger, je nach der Dauer der Behandlung und der Konzentration der Säure, die Wirksamkeit der Extrakte ab.

Kontrollversuche haben gezeigt, daß die als Indikator angewendete Bromthymolblaulösung weder den Darm noch den Uterus beeinflußt und daß der in dest. Wasser gelöste Rückstand dieselbe Wirksamkeit aufweist wie der in n NaCl gelöste.

Abb. 1. Atropinisiertes Rattenduodenum.
1 = 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt, unbehandelt (1 ccm = 0,1 g Schleimhaut).
2 = dieselbe Menge Extrakt nach 24stündigem Stehen, bei Zimmertemperatur, mit n NaOH.
3 = 0,2 ccm Extrakt nach 24stündigem Stehen mit n HCl.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

Das gilt natürlich nur unter der Bedingung, daß die zum Suspensionsbade hinzugefügten Flüssigkeitsmengen nicht zu groß sind.

Nach 1stündigem Kochen mit n HCl wirken die Magenextrakte auf den atropinisierten Kaninchendünndarm nicht mehr wie gewöhnlich hemmend, sondern leicht erregend (Abb. 2).

Eine von den in dieser Versuchsreihe festgestellten Tatsachen scheint mir ganz besonders merkwürdig zu sein: das Verhalten der Extrakte der Alkalibehandlung gegenüber.

Auf Grund der chemischen Natur der aktiven Substanz (es handelt sich um einen Di- oder Polyphenolstoff!) hätte man daraus eine Abschwächung der biologischen Wirksamkeit der Extrakte erwarten müssen. Das ist aber nicht der Fall gewesen: die Extrakte haben immer und bedeutend an Aktivität zugenommen.

Über die mögliche Erläuterung des Befundes werde ich bei der Erörterung sämtlicher Ergebnisse und noch mehr in zukünftigen Arbeiten zurückkommen.

Habe übrigens schon hier einige weitere Versuche über die interessante Frage angestellt. Es wurden nämlich die Untersuchungen über die Kaninchenmagenextrakte erweitert (verschieden lange Behandlung bei 100° mit n NaOH und mit 0,1 n NaOH) und es wurden Magen- und Duodenalauszüge von anderen Tierarten (Schaf, Schwein, Kalb) in Betracht gezogen.

Auch hier sind die mit den Kaninchenmagenextrakten erhaltenen Resultate tabellarisch wiedergegeben:

Tabelle 2.

	Aktivität in % nach Behandlung bei 100° während				
	15 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.	180 Min.
n NaOH	150–170	140–150	120	90–100	60–70
0,1 n NaOH	—	160	130–140	100–110	—
Dest. Wasser	100	100	100	100	100

Es ergibt sich aus der Tabelle:

a) daß die höchste Wirksamkeit der mit n NaOH gekochten Extrakte schon nach 15 Minuten erreicht wird, und daß dann, bei fortdauernder Behandlung, die Wirksamkeit stufenweise abnimmt, um nach 3 Stunden deutlich unter den Ausgangswert zu sinken;

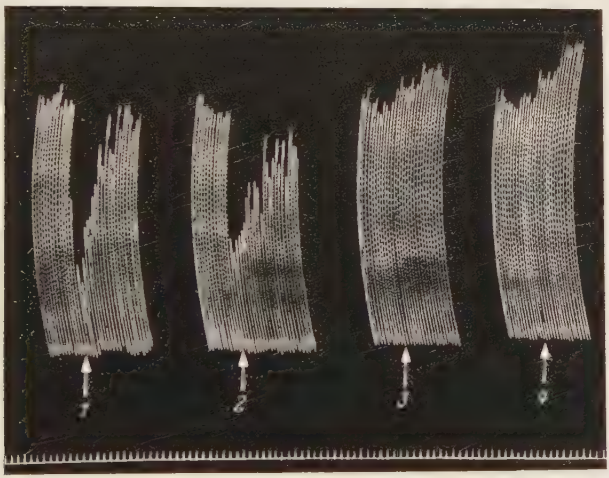


Abb. 2. Atropinisierter Kaninchendünndarm.
1 = 0,2 ccm Kaninchenmagenextrakt, unbehandelt (1 ccm = 4 g Fundusschleimhaut).
2, 3, 4 = dieselbe Menge Extrakt nach Kupplung mit p-Nitrobenzoldiazoniumchlorid (2), nach Desaminierung (3) und nach Behandlung (60 Minuten bei 100°) mit nHCl (4).
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

b) daß beim Kochen der Extrakte mit 0,1 n NaOH die biologische Wirksamkeit am stärksten nach 30 Minuten ist;

c) daß endlich auch ein 3stündiges Kochen des in dest. Wasser aufgenommenen Rückstandes ohne Einfluß auf die darm- und uteruserregende Aktivität desselben ist.

Was die Magenextrakte von Schaf und von Kalb, sowie den Duodenalextrakt von Kalb betrifft, so konnte ich feststellen, daß ihre biologische Wirksamkeit nach 20 Minuten langem Kochen mit n NaOH unverändert ist. Die Wirksamkeit des Schweinemagenextraktes scheint dagegen, unter den gleichen Bedingungen, etwas abgeschwächt zu sein.

Wir werden später erfahren, daß die Kaninchenmagenextrakte durch Erhitzung mit Kaliumjodat und durch Kupplung mit einem Diazoniumsalz völlig inaktiviert werden können. Nun wohl: genau dasselbe geschieht auch für die mit Alkali vorbehandelten Extrakte.

Um zu sehen, ob die durch NaOH-Behandlung gesteigerte biologische Wirksamkeit (bzw. die durch HCl-Behandlung verminderte) von einer entsprechenden Veränderung in der Intensität der chemischen Farbreaktionen begleitet war, habe ich an den 15 oder 60 Minuten mit n NaOH und an den 60 Minuten mit n HCl gekochten Extrakten die Diazoreaktion nach Gebauer-Fulnegg durchgeführt.

Es konnte festgestellt werden, daß die Intensität der Gebauer-Fulneggschen Reaktion nach 15 Minuten langer Alkalibehandlung fast unverändert ist, daß sie im Gegenteil nach 60 Minuten langer Behandlung, sowohl mit Alkali als auch mit Säure, um 50% abgeschwächt ist.

2. Behandlung mit Kaliumjodat.

Schon Aiazzi Mancini (2) hatte beweisen können, daß eine mit Kaliumjodat behandelte Adrenalinlösung (Adrenalinreaktion nach Fränkel und Allers) biologisch inaktiviert wird.

Einer in leicht saurem oder leicht alkalischem Medium durchgeführten Jodinaktivierung bediente sich später in seinen Untersuchungen über die Prostataextrakte auch v. Euler (12), um die durch Adrenalin verdeckte biologische Aktivität der Substanz *P* hervorzuheben.

Auch in meinen Untersuchungen (9) über die Acetonextrakte der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris erwies sich die Behandlung mit Kaliumjodat erfolgreich, indem sie, unter Inaktivierung des in den Extrakten vorhandenen Di- oder Polyphenolamins, den anderen benzolkernigen Stoff verschonte, der sich durch Ultraviolettbestrahlung in Adrenalin umwandelt.

Eine kleine Menge Trockenrückstand (ungefähr 30 mg), entsprechend 10 g Kaninchenmagenschleimhaut, wird in 5 ccm dest. Wasser aufgenommen. Man gibt 0,5 ccm einer gesättigten Kaliumjodatlösung und 2—3 Tropfen von 0,01 n HCl hinzu. Man erwärmt 5—15 Minuten auf dem siedenden Wasserbade.

Es erscheint sofort eine violettrote Farbe, die später einen braunen Ton aufnimmt. Die Flüssigkeit wird nach der Behandlung sofort abgekühlt, mit dest. Wasser auf 10 ccm gebracht (1 ccm = 1 g Schleimhaut) und am atropinisierten Mäuse- und Rattendarm sowie am atropinisierten Mäuse- und Rattenuterus geprüft. Zur Kontrolle dienen 9,5 ccm dest. Wasser + 0,5 ccm gesättigte Kaliumjodatlösung + 2—3 Tropfen 0,01 n HCl. Es ergab sich folgendes:

a) Nach Behandlung mit Kaliumjodat ist die charakteristische tonuserregende und bewegungsfördernde Wirkung der Extrakte völlig oder fast völlig verschwunden (Abb. 3).

b) Die Kaliumjodatkontrollösung ist, mindestens bei den von mir angewendeten Dosen, ohne Einfluß auf den Tonus und die Bewegungen der untersuchten Organe. Auch die von den Magenextrakten auf den Blutdruck des atropinisierten Kaninchens entfaltete Wirkung ist nach

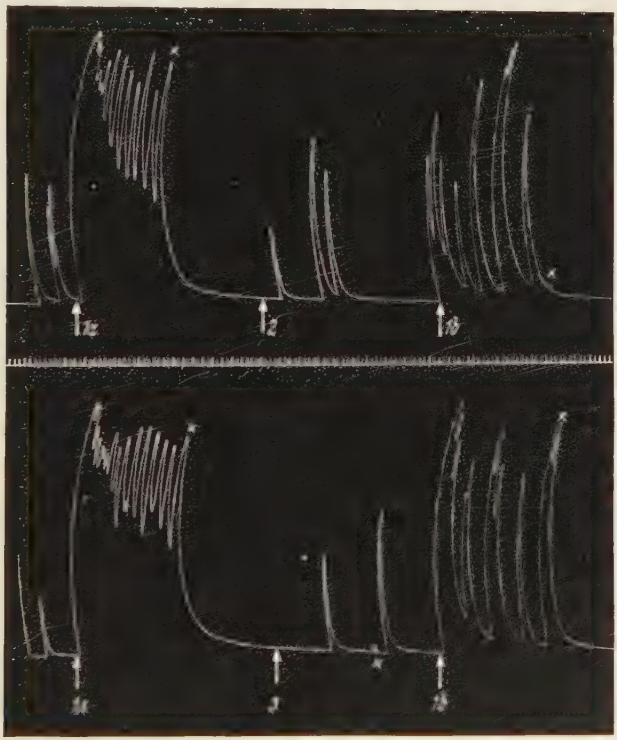


Abb. 3. Atropinisierter Rattenuterus (Brunsttier).
1 a = 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt, unbehandelt (1 ccm = 1 g Schleimhaut).
1 b = 0,01 ccm Kaninchenmagenextrakt, unbehandelt.
2, 3 = 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt nach Behandlung mit Kaliumjodat (2) und nach Kupplung mit p-Nitrobenzoldiazoniumchlorid (3).
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

Jodatbehandlung völlig aufgehoben oder, falls die Atropinisierung des Tieres nicht hinreichend ist, durch eine viel geringere Blutdrucksenkung ersetzt, die quantitativ und qualitativ wie diejenige aussieht, die durch kleine Azetylcholinmengen zu erzielen ist.

Die Wirkung der Kaninchenmagenextrakte auf den sensibilisierten Froschrektus, auf das nicht atropinisierte Froschherz (Abb. 5), auf den atropinisierten Taubendünndarm und auf den atropinisierten menschlichen

Uterus (Abb. 4) bleibt nach Behandlung mit Kaliumjodat vollkommen unverändert.

Ähnliche Versuche sind auch an anderen Magen- (Schaf, Schwein) und Darmextrakten (Kalb) durchgeführt worden.

In allen Fällen hat das Kochen mit Kaliumjodat zum Verschwinden oder zu einer erheblichen Abschwächung der charakteristischen biologischen Wirksamkeit geführt.

Histamin, Azetylcholin, Adenylsäure und Substanz *P* (Euler) scheinen nach Behandlung mit Kaliumjodat an Wirksamkeit nicht eingebüßt zu haben.

Die Diazoreaktion (p-Nitranilin) fällt bei inaktivierten Extrakten viel schwächer aus als bei Kontrollextrakten, und die erhaltene Farbe ist

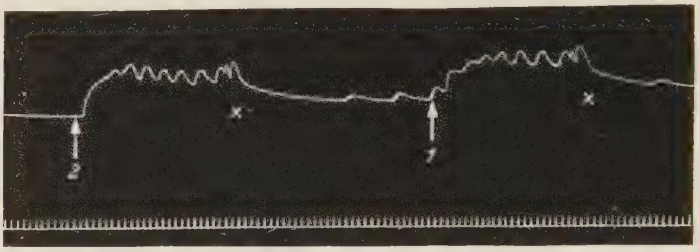


Abb. 4. Mensch. Atropinisierter schwangerer Uterus.
1 = 0,25 ccm Kaninchenmagenextrakt, unbehandelt (1 ccm = 8 g Schleimhaut).
2 = dieselbe Menge Extrakt nach Behandlung mit Kaliumjodat.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

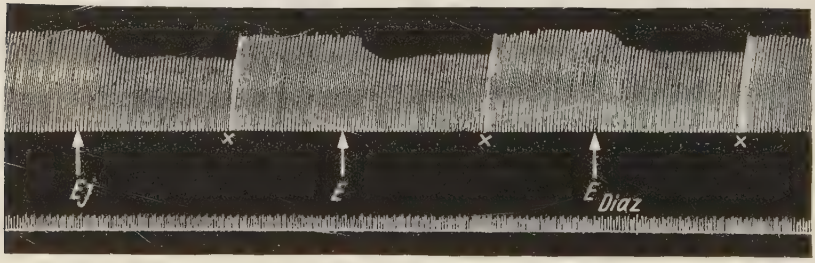


Abb. 5. Froschherz nach Straub.
E = 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt, unbehandelt (1 ccm = 2 g Schleimhaut).
E_j = dieselbe Menge Extrakt nach Behandlung mit Kaliumjodat.
E_{Diaz} = dieselbe Menge Extrakt nach Kupplung mit p-Nitrobenzoldiazoniumchlorid.
Zeitzeichen: 1 Sekunde.

anstatt weinrot rot-bräunlich. Durch Schütteln mit Amylalkohol gelingt es, nur Spuren einer gelblichen Farbe zu extrahieren.

3. Behandlung mit Diazoniumsalzen.

Das Verfahren wurde schon von Dragstedt und Mead (8) für die Inaktivierung des Histamins benutzt. Mir selbst lieferte es ausgezeichnete Resultate gelegentlich meiner Untersuchungen über die Acetonextrakte der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris.

Es beruht darauf, daß eine große Anzahl von Phenol- und Imidazolverbindungen (wir lassen hier absichtlich alle anderen kupplungsfähigen Stoffe beiseite) imstande ist, mit den verschiedensten alkalischen Diazolösungen, unter Bildung von Azofarbstoffen, zu kuppeln.

Nach der Kupplung sind natürlich die ursprünglichen Substanzen chemisch und danach auch biologisch tief verändert.

Zur Herstellung des p-Nitrobenzoldiazoniumchlorids (das am meisten von mir angewendete Diazoniumsalz) werden in einem Kölbchen 50 ccm der wässerigen gesättigten Lösung von p-Nitranilin mit 0,13 ccm konzentrierter Salzsäure versetzt und dann, nach Abkühlung bis auf 1—2°, mit weiteren 5 ccm abgekühlter 0,69%iger $NaNO_2$-Lösung gemischt. Nach 20—30 Minuten ist die indessen im Eisschrank aufbewahrte Flüssigkeit brauchbar. 0.4 ccm davon werden in ein Reagensglas gegossen, das schon, in 3 ccm dest. Wasser, eine 4 g Kaninchenmagenschleimhaut entsprechende Menge Trockenrückstand enthält. Man fügt weitere 0,6 ccm 1%iger Natriumbikarbonatlösung hinzu. Sofort entsteht eine schöne rote Farbe (Diazoreaktion).

Nachdem man sich durch eine geeignete Kontrollprobe (3 ccm dest. Wasser + 0.4 ccm Diazoniumsalzlösung + 0.6 ccm Natriumbikarbonat) versichert hat, daß die alkalische Lösung des Diazoniumsalzes für sich selbst unwirksam ist, werden die mit p-Nitrobenzoldiazoniumchlorid behandelten Extrakte biologisch geprüft.

Man konnte folgendes feststellen:

1. Nach Kuppelung mit dem Diazoniumsalz des p-Nitranilins ist für die Magenextrakte ein totaler oder mindestens 97—98%iger Verlust an der erregenden Aktivität auf den Rattendünndarm und auf den Rattenuterus zu beobachten (Abb. 3).

2. Unverändert dagegen bleibt die leichte und flüchtige hemmende Wirkung auf den atropinisierten Kaninchendünndarm (Abb. 2) und die negativ inotrope Wirkung auf das nicht atropinisierte Froschherz (Abb. 5).

3. Die blutdrucksenkende Aktivität der Extrakte ist vollkommen verschwunden oder stark abgeschwächt. In diesem zweiten Falle (nicht hinreichende Atropinisierung) ist der flüchtige und bescheidene Blutdruckabfall jenem ähnlich, der durch Injektion von kleinen Azetylcholinmengen zu erzeugen ist.

Ähnliche Resultate sind auch durch Behandlung der Extrakte mit dem Diazoniumsalz der Sulfanilsäure (p-Diazobenzolsulfosäure) zu erzielen.

4. Desaminierung.

Sie wurde gewöhnlich nach Gaddum und Schild (16) durchgeführt. Eine 10 g Schleimhaut entsprechende Menge Trockenrückstand wird in 2,6 ccm dest. Wasser aufgenommen und mit 0,6 ccm n H_2SO_4 und 0,3 ccm 5n $NaNO_2$ versetzt. Man kocht 15 Minuten auf dem siedenden Wasser-

bad und läßt nachher bei Zimmertemperatur über Nacht stehen. Dann gibt man weitere 1,5 ccm n H_2SO_4 zu und kocht wieder solange, bis die Reaktion auf Stickoxyde mit Jodkalium-Stärkepapier negativ ist. Man neutralisiert mit NaOH und bringt auf 10 ccm mit dest. Wasser (1 ccm Flüssigkeit = 1 g Schleimhaut).

Es werden auch zwei Kontrollsätze bereitet. Der eine besteht aus Extrakt + H_2SO_4, der andere aus dest. Wasser + Nitritlösung + H_2SO_4. Beide werden genau in derselben Weise behandelt wie der zu desaminierende Extrakt.

Die auf den Rattenuterus und auf den Rattendünndarm durchgeführten Versuche beweisen folgendes:

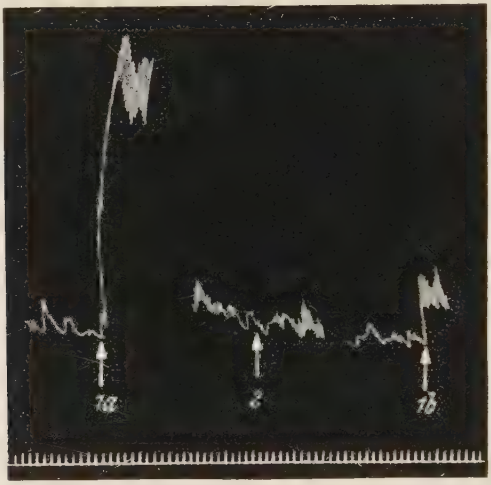


Abb. 6. Atropinisiertes Rattenduodenum.
1 a = 0,1 ccm Kaninchenmagenextrakt, unbehandelt (1 ccm = 1 g Schleimhaut).
2 = dieselbe Menge Extrakt nach Desaminierung.
1 b = 0,01 ccm Kaninchenmagenextrakt, unbehandelt.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

a) Nach Desaminierung ist die charakteristische biologische Aktivität der Extrakte vollkommen oder fast vollkommen (98—99%) zerstört (Abb. 6).

b) Die Wirksamkeit des ohne Nitrit gekochten Kontrollextraktes ist nur mäßig abgeschwächt. Es bleibt noch etwa 50—60% der Ausgangsaktivität übrig.

c) Die zweite Kontrollflüssigkeit ist für sich inaktiv. Sie verändert auch nicht die Wirkung von zugleich zum Suspensionsbade zugefügten aktiven Extraktmengen.

Auch die blutdrucksenkende Wirkung der Extrakte und die erschlaffende Wirkung auf den atropinisierten Kaninchendünndarm gehen nach Desaminierung vollkommen verloren (Abb. 2).

Die blutdrucksenkende Aktivität des mit H_2SO_4, ohne Nitrit, gekochten Kontrollextraktes bleibt größtenteils übrig, nicht aber die hemmende Wirkung auf den Kaninchendünndarm.

In ähnlicher Weise wie Kaninchenmagenextrakte sind auch Schweine- und Schafmagenextrakte behandelt worden.

Auch hier wird durch Desaminierung die biologische Aktivität völlig (beim Schaf) oder größtenteils (beim Schwein) aufgehoben.

Um den Desaminierungsprozeß auch mittels chemischer Farbreaktionen näher folgen zu können, habe ich die Diazoreaktion an desaminierten und an mit H_2SO_4 (ohne Nitritzusatz) behandelten Kaninchenmagenextrakten durchgeführt. Ergebnisse:

a) Die von den nur mit H_2SO_4 gekochten Extrakten gegebene Diazoreaktion gleicht, obwohl sie etwas schwächer ausfällt, der von nicht behandelten Extrakten gegebenen Reaktion.

b) Die Diazoreaktion des desaminierten Kaninchenmagenextraktes ist schwach grünbraun. Wenn man die alkalische Lösung des Azofarbstoffes mit Amylalkohol extrahiert, so nimmt die alkoholische Schicht eine schwachgrüne, die wässerige Schicht eine gelblichbraune Färbung an.

Einige Extraktportionen sind auch nach Felix und Putzer-Reybegg (14) desaminiert worden. Eine 15 g Schleimhaut entsprechende Menge Trockenrückstand wird in 2 ccm dest. Wasser aufgenommen. Man fügt 2 ccm Eisessig und 0,5 ccm 5 n $NaNO_2$ hinzu. Man schüttelt 10—15 Minuten und läßt nachher 2—3 Stunden stehen. Dann wird die Flüssigkeit mit konzentrierter Schwefelsäure bis zu einem Gehalt von 5 Vol% versetzt und solange gekocht, bis die Reaktion mit Jodkalium-Stärkepaier negativ ist. Man neutralisiert mit NaOH und bringt auf 15 ccm mit dest. Wasser (1 ccm Flüssigkeit = 1 g Schleimhaut). Eine Kontrolle wird genau gleich behandelt, jedoch ohne Nitritzusatz. Die am Ratten- und am Mäusedünndarm sowie am Ratten- und am Mäuseuterus durchgeführten Versuche zeigten die vollkommene Inaktivierung der desaminierten Extraktportionen. Die Aktivität der nur mit Eisessig gekochten Portionen betrug dagegen immer mehr als 50% des Ausgangswertes.

5. Benzoylierung.

Sie wurde in der üblichen Weise nach Schotten-Baumann durchgeführt. Eine 8 g Schleimhaut entsprechende Menge Trockenrückstand wird in 4 ccm 10%iger NaOH-Lösung aufgenommen. Man gibt 1 Tropfen Benzoylchlorid hinzu und schüttelt kräftig für 15—20 Minuten. Die Flüssigkeit trübt sich und es bildet sich eine kleine Menge eines gelblichen amorphen Niederschlages. Man läßt die Flüssigkeit 1—2 Stunden stehen, neutralisiert sie mit HCl und prüft sie endlich chemisch und biologisch

(Rattendünndarm). Eine Kontrolle wird nur mit NaOH, ohne Benzoylchloridzusatz, behandelt.

Es konnte bewiesen werden, daß die Kaninchenmagenextrakte durch Benzoylierung vollkommen inaktiviert werden.

Oft ist bei benzoylierten Extrakten sogar eine leichte und flüchtige hemmende Wirkung auf den Tonus und auf die Spontanbewegungen des Rattendünndarmes zu beobachten. Sie ist wahrscheinlich den vorhandenen Spuren von Benzoylchlorid zu verdanken. Daß übrigens solche Spuren von Benzoylchlorid nicht imstande sind, die erregende Wirkung von kleinsten Mengen eines aktiven Extraktes zu hindern, geht aus Kontrollversuchen hervor.

Die mit 10%iger NaOH-Lösung behandelte Probe zeigt eine merkwürdige Steigerung ihrer biologischen Aktivität: das stimmt mit den in einem anderen Teil dieser Arbeit gemachten Beobachtungen völlig überein.

Die Diazoreaktion (p-Nitranilin) fällt beim benzoylierten Extrakt viel schwächer aus als beim unbehandelten. Der Farbton ist anstatt weinrot bräunlich. Der Amylalkohol extrahiert nur Spuren einer gelb-schmutzigen Farbe.

6. Formolbehandlung.

Die Methode ist zur chemischen und biologischen Inaktivierung von verschiedenen biogenen Aminen (Adrenalin, Histamin, Tyramin, Adenosinverbindungen usw.) oft angewendet worden [Abelous und Delas (1), Cramer (6), Best und Mc Henry (3), Zipf und Bartscher (38) usw.]. Sie beruht auf der Tatsache, daß das Formaldehyd mit der Aminogruppe der primären und sekundären Amine unter Bildung der sogenannten Schiffschen Basen reagiert.

$$R{-}NH_2 + H{-}CHO = R{-}N{=}CH_2 + H_2O.$$

Mehrere Portionen Trockenrückstand, entsprechend 4 g Schleimhaut, werden in 2 ccm Formalin (= 35% Formaldehyd) $^1/_{100}$ bzw. $^1/_{1000}$ und $^1/_{10000}$ aufgenommen. Eine Reagensgläserserie wird für 20 Minuten auf dem siedenden Wasserbad gekocht, eine andere bei 60° behandelt. Man kühlt nachher unter fließendem Wasser ab, bringt die Flüssigkeiten auf 4 ccm mit dest. Wasser (1 ccm = 1 g Schleimhaut) und prüft sie am atropinisierten Rattendünndarm und am atropinisierten Rattenuterus.

Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt (s. auch Abb. 7).

Tabelle 3.

	Aktivität übrig in % nach	
	20 Min. bei 60°	20 Min. bei 100°
Formalin $^1/_{100}$	0	0
„ $^1/_{1000}$	20—25	< 1
„ $^1/_{10\,000}$	100	75—85

Formalin $^1/_{2000}$ oder $^1/_{20000}$ ist für sich selbst bei den von mir geprüften Dosen ohne Wirkung auf den Tonus und auf die Spontanbewegungen der Rattenorgane.

0.1—0.2 ccm der 0.5 %igen Formalinlösung wirken dagegen oft schwach und flüchtig hemmend: da aber diese leichte Hemmung durch kleinste Mengen des unbehandelten Extraktes zu überwinden ist, so braucht sie bei der Abschätzung von den in der Tabelle verzeichneten Resultaten kaum in Betracht gezogen werden.

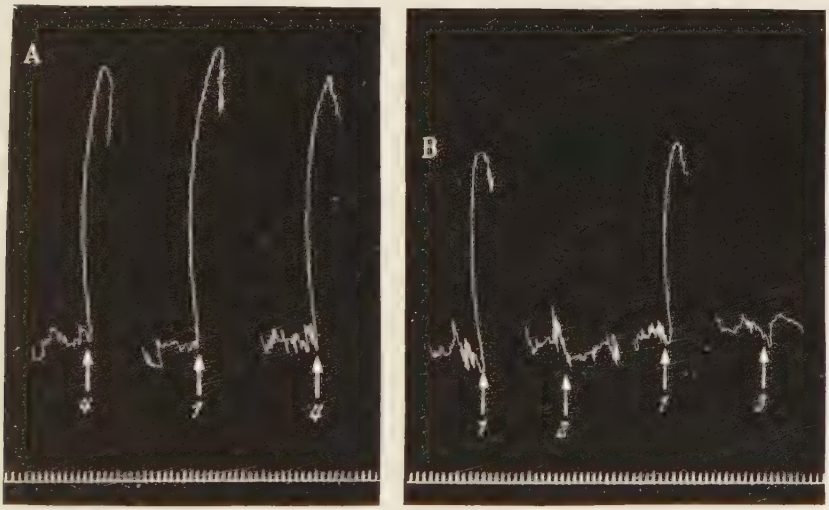


Abb. 7. Atropinisiertes Rattenduodenum.

1 = 0,01 ccm Kaninchenmagenextrakt, unbehandelt (1 ccm = 1 g Schleimhaut).
2—3 = 0,1 ccm Extrakt nach Behandlung (20 Minuten bei 100°) mit Formalin $^1/_{100}$ (2) und Formalin $^1/_{1000}$ (3).
4 = 0,01 ccm Extrakt nach Behandlung mit Formalin $^1/_{10000}$.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

Bei Zimmertemperatur scheint die Formalininaktivierung sehr langsam zu verlaufen: nach 10—20 Minuten hat man, auch mit 1 %iger Formalinlösung, keine eindeutigen Resultate.

Die Diazoreaktion und die Jodatreaktion zeigen nach Behandlung mit Formalin $^1/_{1000}$ oder $^1/_{10000}$ keine wahrnehmbaren, weder qualitativen noch quantitativen Veränderungen. Abgeschwächt ist dagegen die nach Behandlung mit Formalin $^1/_{100}$ durchgeführte Diazoreaktion: die Intensität der durch Amylalkohol extrahierten Farbe ist um 25 % vermindert.

Die Kaliumjodatreaktion bleibt nach Behandlung mit Formalin $^1/_{100}$ quantitativ unverändert: der erhaltene Farbton ist jedoch bräunlicher als gewöhnlich.

7. Ultraviolettbestrahlung (bei Luftgegenwart).

Als Lichtquelle diente eine Hanauer (Quarzlampe 220 Volt, 5 Amp.). Die Lösungen wurden immer in offenen Schalen, also bei Luftgegenwart, bestrahlt. Der Abstand von der Quarzlampe betrug 15 cm. Zur Einschränkung von Erwärmung und Verdunstung wurden die Schalen während der Bestrahlung mit Eis umgeben. Die Höhe der Flüssigkeitssäule betrug 5—10 mm.

Verschiedene Fraktionen Trockenrückstand, entsprechend 20 g Kaninchenmagenschleimhaut, wurden in 10 ccm $^1/_{200}$ n HCl aufgenommen und für 30, 60, 120, 180, 240 Minuten bestrahlt. Es wurde in schwach saurem Medium bestrahlt auf Grund einiger von mir bei ähnlichen Untersuchungen über die Extrakte der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris gemachten Beobachtungen.

a) Farbe der bestrahlten Lösungen.

Die ursprünglich gelblichen Flüssigkeiten nehmen schon nach 30 Minuten Bestrahlung eine braunrötliche Färbung an, die sich bei fortgesetzter Behandlung zuerst (60 Minuten) vertieft und dann (120 Minuten) in Braungelb umschlägt. Wenn man noch weiter bestrahlt, dann beginnen die Flüssigkeiten sich zu entfärben; nach 240 Minuten ist die Farbintensität der bestrahlten Extrakte schon schwächer als die der unbestrahlten.

b) Farbreaktionen und Fluoreszenzreaktion.

Die Diazoreaktion (p-Nitranilin) ist schon nach 30 Minuten Bestrahlung merklich abgeschwächt. Nach 60 Minuten ist die Abschwächung eine viel beträchtlichere und der Ton des sich bildenden Azofarbstoffes ist anstatt weinrot bräunlich. Dasselbe ist auch nach 2, 3, 4 Stunden Bestrahlung zu beobachten.

Der charakteristische Farbumschlag in Amethystviolett, der durch starkes Ansäuern der alkalischen Lösungen des Azofarbstoffes erzeugt werden kann, ist nach 30 Minuten Bestrahlung, obwohl abgeschwächt, noch deutlich zu erhalten; nicht mehr aber nach 60, 120, 180, 240 Minuten.

Wenn man den Azofarbstoff nach dem Gebauer-Fulneggschen Verfahren zu extrahieren versucht, so sieht man, daß schon nach 30 Minuten Bestrahlung die Intensität der durch Amylalkohol extrahierbaren rotvioletten Farbe nur etwa 40% des Ausgangswertes beträgt.

Nach 1stündiger Bestrahlung ist die Intensität über 90% abgeschwächt; nach 2-, 3-, 4stündiger Bestrahlung gehen in Amylalkohol nur Spuren einer gelblich-schmutzigen Farbe über, und die wässerige Schicht bleibt stark braun gefärbt. Die Kaliumjodatreaktion fällt nach 30 Minuten Bestrahlung noch positiv aus: sie ist doch merklich abgeschwächt und ihr

Farbton ist anstatt violett braunviolett; nach 60, 120, 180, 240 Minuten fällt die Reaktion negativ aus.

Bestrahlte und unbestrahlte Extrakte fluoreszieren vor der Alkalizugabe gleich stark; der Farbton der Fluoreszenz ist jedoch weiß-grünlich bei den ersten Extrakten, silberweiß bei den zweiten.

Sofort nach Alkalizusatz nimmt die Fluoreszenz aller Flüssigkeiten an Intensität ab und bleibt dann längere Zeit unverändert. Jene unmittelbare Fluoreszenzzunahme, die z. B. bei adrenalinhaltigen Flüssigkeiten zu sehen ist, konnte bei unseren Magenextrakten nie beobachtet werden.

48—72 Stunden nach dem Alakalizusatz zeigt der unbestrahlte Kontrollextrakt die charakteristische lebhafte silbergrüne Fluoreszenz. Die Fluoreszenz des für 30 Minuten bestrahlten Extraktes ist, obwohl noch lebhaft, schon ungefähr halbiert, die der für 60, 120, 180 Minuten bestrahlten Extrakte ist schwach grünlich und beträgt ungefähr $^1/_6$—$^1/_8$ des Kontrollwertes.

c) Biologische Ergebnisse.

Schon nach 30 Minuten Bestrahlung ist die blutdrucksenkende Wirkung der Extrakte deutlich abgeschwächt (ungefähr halbiert). Nach

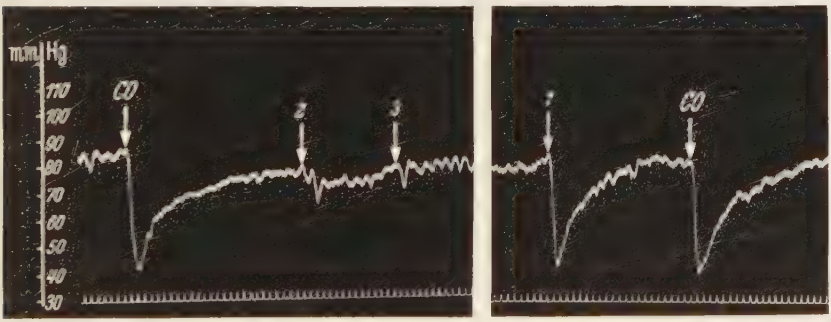


Abb. 8. Carotisdruck eines 2,8 g schweren Kaninchens (Urethannarkose 1,5 g/kg; Atropinsulfat subcutan 3 mg/kg). Alle Injektionen intravenös.
CO = 1 ccm Kaninchenmagenextrakt, unbehandelt (1 ccm = 4 g Schleimhaut).
1, 2, 3 = 2 ccm Extrakt nach 30 (1), 60 (2) und 120 Minuten (3) Ultravioletttbestrahlung.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

1-, 2-, 3stündiger Behandlung sind die Extrakte ohne Einfluß oder fast ohne Einfluß auf den Blutdruck des atropinisierten Kaninchens (Abb. 8).

Keiner der zahlreichen von mir bestrahlten Kaninchenmagenextrakte zeigte jene blutdrucksteigernden Effekte, die an ultraviolettbestrahlten Acetonextrakten der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris so deutlich hervortraten. Die tonussteigernde Wirkung der Magenextrakte auf den atropinisierten Rattendünndarm beträgt nach 30 Minuten Bestrahlung etwa 50% des Ausgangswertes; nach 60 Minuten etwa 5—10%; nach 120—180 Minuten können die Extrakte als wirkungslos angesehen

werden. Niemals konnte ich hemmende Wirkungen auf den Tonus oder auf die Spontanbewegungen bemerken. Ähnliche Resultate sind auch am atropinisierten Uterus zu erlangen.

Was den Kaninchendünndarm betrifft, so kann man sehen, daß vor Atropinzusatz die bestrahlten Extrakte stärker kontraktionsfördernd wirken als die unbestrahlten, und daß nach Atropinzusatz die bestrahlten Extrakte weniger hemmen als die unbestrahlten.

8. Behandlung mit Histaminase.

Um zu sehen, ob das höchstwahrscheinlich in meinen Kaninchenmagenextrakten vorhandene Histamin bei der Entfaltung der charakteristischen Wirkungen der Extrakte auf den Rattendünndarm und auf den Kaninchenblutdruck eine Rolle spielt, prüfte ich die Extrakte vergleichend vor und nach Histaminasebehandlung.

Als Histaminasepräparat wurde das Torantil Bayer benutzt. Der Inhalt einer Torantil-Ampulle (1 Torantil-Einheit) wurde in 10 ccm NaCl 0,9% gelöst. Eine 4 g Magenschleimhaut entsprechende Menge meines Trockenrückstandes wurde in 4 ccm solcher Torantillösung aufgenommen.

Zur Kontrolle der Wirksamkeit des Histaminasepräparats wurden auch 2 ccm Histamindichlorhydrat $^1/_{10\,000}$ mit 2 ccm Torantillösung versetzt.

Beide Flüssigkeiten wurden im Thermostat 24 Stunden bei 37° inkubiert und dann chemisch und biologisch geprüft. Es ergab sich folgendes:

1. Die Histaminasebehandlung ist ohne Einfluß sowohl auf die biologische Wirksamkeit der Kaninchenmagenextrakte (Testobjekte: Rattendünndarm, Rattenuterus, Kaninchenblutdruck) als auch auf die Intensität ihrer Farbreaktionen (Diazoreaktion, Jodatreaktion, Fluoreszenzreaktion).

2. Das Histamin wird durch Torantilbehandlung vollkommen inaktiviert (Testobjekte: Meerschweinchenuterus, Meerschweinchendünndarm).

3. Auch die Diazoreaktion des Histamins (p-Nitranilin) ist nach Torantilbehandlung tief verändert: die Farbe des erhaltenen Azofarbstoffes ist anstatt orangerot dunkelrot, und sie wird nicht mehr durch Amylalkohol extrahiert.

Es ist zu erwähnen, daß die Torantillösung für sich selbst auf alle geprüften Testobjekte wirkungslos ist.

9. Adsorptionsversuche.

In einigen orientierenden Versuchen konnte ich feststellen, daß die uterusaktive und darmaktive Substanz der Kaninchenmagenextrakte sehr stark, bei allen geprüften Reaktionen (p_H 1–13), an Tierkohle adsorbiert wird. Die Elution ist bisher nicht gelungen. Auch Tonsil erwies sich als sehr effektiv, nicht dagegen Neutralon (Schering).

Nach Adsorption der wirksamen Substanz fallen in den Extrakten die Farbreaktionen des Enteramins negativ aus.

III. Erörterung der Befunde.

1. Schon auf Grund der in meiner früheren Arbeit erhaltenen Resultate konnte ich schließen, daß die in den Kaninchenmagenextrakten vorhandene, den atropinisierten Rattenuterus und den atropinisierten Rattendünndarm erregende Substanz mit dem von Vialli und mir mittels chemischer Farbreaktionen in denselben Extrakten aufgefundenen Di- oder Polyphenol (Enteramin) zu identifizieren ist.

Die Genauigkeit dieser Schlußfolgerungen wird nun durch eine weitere Reihe beweiskräftiger Beobachtungen gestützt. Es konnte nämlich unter anderem festgestellt werden, daß sämtliche Behandlungen, die das Di- oder Polyphenol chemisch angreifen und dadurch seine charakteristischen Farbreaktionen abschwächen oder vernichten (Desaminierung, Benzoylierung, Ultraviolettbestrahlung, Jodbehandlung, Diazoreaktion), auch eine mehr oder minder vollständige biologische Inaktivation der Extrakte mit sich bringen.

2. Die in der gegenwärtigen Arbeit erhobenen Befunde gestatten es uns, das Enteramin von allen anderen schon bekannten aktiven Gewebsprodukten nicht nur durch chemische Farbreaktionen, sondern auch durch biologische Methoden scharf abzugrenzen.

Folgende, aus persönlichen Daten, aus Daten von Einzelarbeiten und von monographischen Arbeiten (13, 15, 18, 28, 30) zusammengestellte Vergleichstabelle sollte die Abgrenzung des Enteramins von den anderen aktiven Substanzen erleichtern.

Die Tabelle, obwohl sie umfangreich ist, hat nicht den Anspruch, vollständig zu sein. Eine ganz besondere Aufmerksamkeit wurde, wie man sehen kann, der Gruppe der sogenannten „körpereigenen Wirkstoffe" (kreislaufwirksame Gewebsprodukte) gewidmet. Das in Hinsicht auf der weiten Verbreitung, die mehrere von solchen Stoffen in den verschiedensten Organen und Geweben aufweisen, und noch mehr in Hinsicht auf die Tatsache, daß gerade für solche Stoffe eine genaue Abrenzung von unserem Di- oder Polyphenol besonders erforderlich ist.

Jene aktiven Substanzen, die ohne Einfluß auf die glatte Muskulatur und auf den Blutdruck sind, wurden außer Betracht gelassen [für den Magendarmkanal erinnere ich an das Enterocrinin (40), das Sekretin, das Duodenin (19) oder Duokrin (7) oder Inkretin (26) usw.].

In der Tabelle sind auch nicht die Di- oder Polyphenolstoffe der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris (9, 31) und der Milz (41) verzeichnet worden: die dazu gehörigen Probleme, vor allem jenes der Identifizierbarkeit solcher Phenolstoffe mit dem Enteramin, sind in zukünftigen Arbeiten eingehend zu erörtern.

Tabel

	Löslichkeit			Dialysierbarkeit	Elektrodialyse	Persistenz	
	Abs. Alkohol	Aceton	Äthyläther			n HCl (20' bei 100°)	n NaOH (20' bei 100°)
Azetylcholin	+	(−)	−	+		−	−
Histamin	+	(−)	−	+		+	
Adenosinverbindungen	−	−	−	+		−	+
Adrenalin (Sympathin)	−	−	−	+			−
Tyramin	+		(−)	+			
Substanz *P* (Euler u. Gaddum (10, 11, 16))	+	(+)	−	+	zur Kathode	−	−
Felix-Lange-Stoff (14, 27)	+		−			+	
Kallikrein (4, 33)	−	−	−	−		−	−
Substanz DK (34, 35)	+−		−	+	zur Kathode		−
Depressan (36, 37)	−		−	−		−	
Prostaglandin u. Vesiglandin (12)	+	+	+	+	zur Anode	−	−
Koepf-Mezen-Stoff (24)			−				−
Vagotonin (29)	−	−	−	−		−	
Villikinin (25)				+			
Cholecystokinin (21)	−	−	−	−		− (20' HCl 10 %)	−
Renin (20)	−	−	−	−		−	−
Collips Pressor-Substanz (5)	+	−	−				
Vasopressin	−	−	−	+			−
Oxytocin	−	−	−	+	zur Kathode (bei $p_H < 9{,}6$)		−
Enteramin	+		−	+	zur Kathode	+ (>50 %)	+

[1] + = erregende bzw. blutdrucksteigernde Wirkung. − = hemmende

Hier möchte ich noch einmal auf die Tatsache zurückkommen, daß das Enteramin durch biologische Reaktionen sogar von jenen Wirkstoffen scharf abgrenzbar ist, die gewöhnlich die meisten Schwierigkeiten bei der Analyse von neuen Gewebsextrakten bieten.

Das Azetylcholin unterschiedet sich von dem Enteramin hauptsächlich durch seine Atropinempfindlichkeit, durch seine Unbeständigkeit in alkalischem und auch in stark saurem Medium, durch seine Festigkeit gegenüber Behandlung mit Kaliumjodat und mit Diazoniumsalzen; das Histamin durch seine geringe erregende Wirkung auf den Rattendünndarm, durch seine hemmende Wirkung auf den Rattenuterus, durch seine

ologischen Wirksamkeit nach						Biologische Wirkung [1] auf				Vorkommen
Diazotierung	KJO_3-Behandlung	Formolbehandlung	Kohleadsorption	Trypsinbehandlung	Atropin	Rattendünndarm	Rattenuterus	Kaninchendünndarm	Kaninchenblutdruck	
+	+	+–			–	+	+	+	–	Nervensystem, Darm, Herz usw.
-	+				+	(+)	-	(+)		Lunge, Milz usw.
	+	+–			+	0 –	-		-	Muskulatur, Hefe usw.
	–	–	-	+	+	–	-	–	+	Chromaffines Gewebe usw.
-	+	+–	-		+	–	–		+	
	+				+	(+)	(+)	+		Gehirn, Darmmuskulatur
					+			+	-	Milz, Placenta usw.
					+	0		0 +		Harn, Pankreas
								+		Blutserum
			+	+	+			0		Harn
					+	+	+	+		Prostata bzw. Samenblasen
					+		+			Submax. Speicheldrüsen der Ratte
					-					Pankreas
		+	+	+	+					Magen-Darmschleimhaut,
					–				0	Dünndarmschleimhaut
		–	– (p_H 8)	-			0	+	+	Niere (Milz?)
							0 –	0 -	:	Muskel, Leber, Niere, Milz usw. usw.
-		(Pitu-glandol)			+ +		+	-	+	Hinterlappen der Hypophyse
-					-	-	+			Magen-Darmschleimhaut, (Milz)

[1] – drucksenkende Wirkung.

Empfindlichkeit gegenüber Histaminase, durch seine Festigkeit gegenüber Behandlung mit Kaliumjodat; die Adenosinverbindungen durch ihre schwache hemmende Wirkung, wenn eine Wirkung überhaupt vorhanden ist, auf den Rattenuterus und auf den Rattendünndarm, durch ihre Festigkeit der Behandlung mit Kaliumjodat gegenüber; die Substanz *P* von Euler und Gaddum (10, 11, 16) durch ihre unbedeutende Aktivität auf den Rattenuterus und auf den Rattendünndarm, durch ihre stark erregende Wirkung auf den Kaninchendünndarm, durch ihre Inaktivierung beim Kochen in stark saurem oder stark alkalischem Medium, durch ihre Festigkeit endlich gegenüber Desaminierung und Jodbehandlung.

3. In meiner früheren Mitteilung konnte ich beweisen, daß die Kaninchenmagenextrakte unter anderem den atropinisierten menschlichen Uterus, den atropinisierten Taubendünndarm und den sensibilisierten Froschrektus kontrahieren, daß sie den atropinisierten Meerschweinchen- und Kaninchendarm hemmen, daß sie endlich auf das nicht atropinisierte Froschherz eine negativ inotrope und negativ chronotrope Wirkung auslösen. Alle hier erwähnten biologischen Effekte sind gegenüber der Behandlung mit Kaliumjodat und mit Diazoniumsalzen beständig: deshalb kann es sich nicht um Enteramineffekte handeln.

Ich konnte auch seinerzeit beweisen, daß die Kaninchenmagenextrakte beim atropinisierten, urethannarkotisierten Kaninchen eine blutdrucksenkende Wirkung entfalten. Auf Grund meiner gegenwärtigen Versuchsergebnisse ist solche mit großer Wahrscheinlichkeit hauptsächlich auf das Enteramin zurückzuführen. Die blutdrucksenkende Aktivität bleibt nämlich nach Histaminasebehandlung unverändert, geht dagegen nach Kuppelung mit einem Diazoniumsalz, nach Jodatbehandlung und nach Ultraviolettbestrahlung völlig verloren: es darf somit bei der Erzeugung des Blutdruckabfalles die Teilnahme des Histamins, des Azetylcholins, der Adenosinverbindungen und der Substanz *P* ausgeschlossen werden.

Wenn man überdies noch andere in der vorigen Arbeit festgestellten Tatsachen mit in Betracht zieht (Abhängigkeit, bei Magenextrakten verschiedener Herkunft, der blutdrucksenkenden Wirkung vom Enteramingehalt), so darf man wohl den Schluß ziehen, daß das Enteramin nicht nur stark erregend auf den Rattenuterus und auf den Rattendünndarm wirkt, sondern daß es auch, mindestens beim Kaninchen, einen beträchtlichen Blutdruckabfall verursacht.

4. Unter den von den Kaninchenmagenextrakten gezeigten Eigenschaften scheint mir ganz besonders das Verhalten der Extrakte der Alkalibehandlung gegenüber merkwürdig zu sein.

Wir haben gesehen, daß durch kurzes Kochen (10—30 Minuten) mit n NaOH oder 0,1 n NaOH die charakteristische biologische Aktivität der Extrakte immer und bedeutend gesteigert wird; daß dieselbe dagegen durch längeres Kochen mit NaOH abgeschwächt wird.

Diese Beobachtungen erlauben es uns, einige Schlüsse zu ziehen und einige neue Probleme aufzustellen.

Die wichtigste der Schlußfolgerungen ist, daß das Enteramin in den Kanichenmagenextrakten wahrscheinlich unter zwei Formen vorliegt. Die eine Form ist für sich selbst imstande, ohne irgendwelche vorhergehende aktivierende Behandlung, den atropinisierten Rattendarm und den atropinisierten Rattenuterus zu kontrahieren; die andere Form ist für sich inaktiv, ist aber durch Alkalibehandlung und, unter den von mir vorgenommenen Behandlungen, nur durch Alkalibehandlung aktivierbar.

Man könnte natürlich einwenden, es sei auch möglich, daß das Alkali nicht eine inaktive Fraktion des Enteramins aktiviere, sondern daß es lediglich die Aktivität des gesamten vorhandenen Enteramins steigere.

Schon auf Grund der gegenwärtigen Versuchsergebnisse darf eine solche Einwendung abgelehnt werden. Man würde anderenfalls nicht begreifen können, warum nur die Aktivität der Magenextrakte von Kaninchen, nicht aber jene der Magenextrakte von Schaf, von Kalb und von Schwein und auch nicht jene der Duodenalextrakte von Kalb durch Alkalibehandlung gesteigert wird.

Da die Zunahme der biologischen Aktivität der Extrakte nicht von einer gleichlaufenden Zunahme, sondern vielmehr von einer Abnahme der Intensität der chemischen Farbreaktionen begleitet ist, so könnte man auch die Vermutung äußern, daß die Aktivitätssteigerung durch das Erscheinen oder durch das Freiwerden einer anderen Substanz, die nichts mit dem Enteramin zu tun hat, zu erklären sei.

Aber auch diese Vermutung hat keine Beweiskraft; denn auch die mit Alkali gekochten Extrakte werden durch Kupplung mit einem Diazoniumsalz sowie durch Behandlung mit Kaliumjodat vollkommen inaktiviert. Aus dieser vollkommenen Inaktivierung, die sowohl die für sich selbst aktive Fraktion der erregenden Substanz als auch die durch Alkalibehandlung aktivierte Fraktion betrifft, geht klar hervor, daß es sich in beiden Fällen um eine einzige Substanz handelt, die nichts anderes sein kann als das Enteramin.

Die Auffassung der Existenz von aktiven (freien) und von inaktiven (gebundenen) Formen eines Stoffes ist übrigens keineswegs neu. So sollte nach Loewi (43) und anderen Verfassern (44) neben dem sogenannten „freien" Azetylcholin noch ein sogenanntes „gebundenes" Azetylcholin vorkommen.

Und auch beim Histamin spricht man oft von „freiem" Histamin und von „gebundenem" Histamin. Gegenwärtig wissen wir gar nicht, worauf die Alkaliaktivierung einer Fraktion unseres Di- oder Polyphenols beruht. Es scheinen darin die von der alkalischen Reaktion begünstigten Oxydationsprozesse keine wichtige Rolle zu spielen; denn in diesem Falle würden auch Ultraviolettbestrahlung und Jodatbehandlung aktivierend wirken.

Aus den Resultaten der Alkalibehandlung darf man schließen, daß mindestens $^1/_3$ des gesamten Enteramins in den Kaninchenmagenextrakten unter solcher Form vorliegt, die an den von mir geprüften Testobjekten inaktiv ist.

Die zweite wichtige Schlußfolgerung, die aus den Ergebnissen der Alkalibehandlung gezogen werden darf, ist, daß das Enteramin durch Kochen mit NaOH langsam inaktiviert wird (bezüglich der Geschwindigkeit der Inaktivierung wissen wir nicht, ob in unseren Rohextrakten eventuell vorhandene Abwehrsubstanzen eine Rolle spielen können). Wir können

uns davon leicht überzeugen, wenn wir die Aktivität der Extrakte nach 2—3stündigem Kochen mit n NaOH prüfen: die Aktivität ist auch gegenüber derjenigen der unbehandelten Kontrollextrakte abgeschwächt.

Wir können mit Recht annehmen, daß die Alkalibehandlung auf die Kaninchenmagenextrakte gleichzeitig aktivierend und auch inaktivierend einwirkt. Zuerst scheinen die Aktivierungsvorgänge zu überwiegen, und demzufolge nimmt die Wirksamkeit der Extrakte zu; später, nach einem Stadium von Gleichgewicht, würden mit der Erschöpfung der aktivierbaren Fraktion des Enteramins die Inaktivierungsvorgänge vorherrschen, und demzufolge würde die biologische Aktivität der Extrakte bis unter den Ausgangswert und vielleicht auch, wenn die Alkalibehandlung zur Genüge fortgesetzt wird, bis zum Nullwert sinken.

Was die von den vorliegenden Versuchen aufgestellten Probleme betrifft, so kann man sagen, daß dieselben mannigfaltig sind.

Man soll sich vor allem fragen, ob auch die biologisch inaktive Form des Di- oder Polyphenols die charakteristischen Farbreaktionen des Enteramins (Diazoreaktion und Jodatreaktion; ich spiele nicht an die Fluoreszenzreaktion an, da diese gerade durch langdauernde Alkalibehandlung zum Erscheinen gebracht wird) geben.

Auf Grund der Tatsache, daß die Intensität der Diazoreaktion nach Alkalibehandlung nicht wie die biologische Tätigkeit zunimmt, sondern unverändert bleibt oder sogar bedeutend abnimmt, und auf Grund der Tatsache, daß durch Kupplung mit einem Diazoniumsalz auch die mit Alkali behandelten Extrakte vollkommen inaktiviert werden, glaube ich die Frage mit einem Ja beantworten zu können.

Auf das Problem werde ich übrigens noch in zukünftigen Arbeiten zurückkommen.

Eine zweite zu lösende Frage ist jene der Anwesenheit der inaktiven Form des Enteramins in Magenextrakten von anderen Tierarten und in Extrakten von anderen Organen. Aus den spärlichen bis jetzt durchgeführten Untersuchungen sind darüber keine sicheren Schlußfolgerungen zulässig: die inaktive Form scheint jedoch nicht in bestimmbarer Menge in den Magenextrakten von Schaf, Kalb und Schwein und in den Duodenalextrakten von Kalb vorzukommen.

Noch auf ein drittes Problem möchte ich hier zum Schlusse hindeuten. Es betrifft die Existenz von eventuellen Beziehungen zwischen aktiver und inaktiver Form des Enteramins einerseits und histochemisch nachweisbarer (in den enterochromaffinen Zellen) und histochemisch nicht nachweisbarer Form desselben Enteramins andererseits.

Zur Lösung einer solchen Frage müssen natürlich die pharmakologischen Versuche durch histochemische Untersuchungen über Vorhandensein und Zahl der enterochromaffinen Zellen in den in Betracht gezogenen Organen oder Geweben ergänzt werden.

5. Die bei Luftgegenwart vorgenommene Ultraviolettbestrahlung bringt, je nach der Dauer, zu einer mehr oder weniger vollständigen chemischen und biologischen Inaktivierung des Enteramins. Bei den Magenextrakten sind durch Bestrahlung jene blutdrucksteigernden oder darmhemmenden adrenalinähnlichen Effekte, die von mir für die bestrahlten Extrakte der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris (42) beschrieben worden sind, niemals zu erhalten. Daraus ergibt sich, daß die Magenextrakte, im Gegensatz zu den Octopusextrakten, der Muttersubstanz des adrenalinähnlichen Körpers entbehren.

6. Da Histamin und Enteramin sich nicht selten in rohen Organ- und Gewebsextrakten beigemengt finden können, und da beide Substanzen mit dem Diazoniumsalz des p-Nitranilins durch Amylaklohol extrahierbare Azofarbstoffe liefern, so kann es manchmal wünschenswert oder notwendig sein, zu entscheiden, wieviel von einer Diazoreaktion dem Histamin und wieviel dem Enteramin zuzuschreiben ist.

Das entgegengesetzte Verhalten der Diazoreaktion beider Substanzen nach Histaminasebehandlung und nach Benzoylierung bietet uns eine solche Möglichkeit. Man braucht bloß zu bemerken, daß:

a) die Diazoreaktion des Histamins nach Benzoylierung immer positiv ausfällt, und negativ dagegen jene des Enteramins sowie jene anderer Phenolstoffe [siehe auch Inouye (45)].

b) nach Histaminasebehandlung die Diazoreaktion des Enteramins vollkommen unverändert bleibt, daß dagegen jene des Histamins tief verändert ist, so daß der Azofarbstoff nicht mehr durch Amylaklohol extrahiert werden kann.

7. Die Wanderung des Enteramins zur Kathode bei der Elektrodialyse, sein Verhalten gegenüber Extrahierungsproben aus wässerigen alkalischen oder sauren Flüssigkeiten mittels Amylalkohol, Chloroform, Äthyläther usw. (leichte Extrahierbarkeit aus alkalischen Flüssigkeiten, schwere oder sogar fehlende Extrahierbarkeit aus sauren Flüssigkeiten), die Ergebnisse endlich der nach Gebauer-Fulnegg durchgeführten Diazoreaktion waren alles Umstände, die schon früher zugunsten der basischen Natur des Enteramins sprachen [Vialli und Erspamer (31)].

Die Resultate der Desaminierungsversuche und vor allem jene der Formolbehandlung gestatten uns nun, einen weiteren Fortschritt in unseren Kenntnissen über die Natur der im Molekül des Enteramins enthaltenen aktiven Gruppen zu machen, und erlauben uns durch neue Daten die Hypothese der basischen Natur des Enteramins zu bestätigen.

Wir haben gesehen, daß das Enteramin durch Nitritbehandlung völlig inaktiviert wird. Die Nitritreaktion wird aber in der analytischen Chemie oft zum Beweis der Aminonatur eines Stoffes und zur Trennung der primären und sekundären Amine von den tertiären gebraucht.

Man könnte deshalb glauben, aus der Inaktivierung des Enteramins durch salpetrige Säure den Schluß ziehen zu dürfen, daß im Molekül des Enteramins eine oder mehrere Aminogruppen vorhanden sind. Leider ist eine solche Schlußfolgerung dadurch entkräftet, daß die salpetrige Säure auch mit den OH-Gruppen des Phenolkerns reagieren kann und deshalb auch auf diese Weise das Enteramin zu inaktivieren vermag.

Viel sicherere Auskünfte erteilen uns die Ergebnisse der Formalinbehandlung. Zur vollkommenen Inaktivierung der Kaninchenmagenextrakte genügt schon ein 20 Minuten langes Kochen mit 0,01 n Formaldehyd.

Die analytische Chemie bedient sich oft auch des Formaldehyds zur Anerkennung von Aminogruppen und zur Abgrenzung der primären oder sekundären Amine von den tertiären; auf dem Formaldehyd beruht eine der feinsten und gebräuchlichsten Methoden zur quantitativen Bestimmung der Aminosäuren im Harn, im Magen- und Darminhalt usw. (Sörensens Methode); auch die Pharmakologie hat oft die Formolbehandlung zur Inaktivierung von verschiedenen biogenen Aminen und zur Unterscheidung der Amine von anderen Wirkstoffen benutzt [Kendall (23), Zipf und Bartscher (38) usw.].

Das Formaldehyd reagiert nämlich sehr leicht mit den primären oder sekundären Aminogruppen unter Bildung der sogenannten Schiffschen Basen, in welchen der Aminostickstoff mit einer Methylengruppe gebunden wird ($-N=CH_2$); nach der Reaktion sind natürlich die zur Aminogruppe zuzurechnenden chemischen und biologischen Eigenschaften tief verändert.

Auf Grund solcher Betrachtungen glaube ich, daß man meinen Ergebnissen einen nicht unerheblichen Wert beimessen darf; auch glaube ich aus den Resultaten der Formolbehandlung schließen zu können, daß der Di- oder Polyphenolstoff der Kaninchenmagenextrakte eine oder mehrere Aminogruppen enthält, die für die Entfaltung seiner charakteristischen biologischen Wirkung auf den Rattendünndarm und auf den Rattenuterus von entscheidender Bedeutung sein müssen.

Die Aminogruppen sind höchstwahrscheinlich in einer oder mehreren Seitenketten gestellt [Vialli u. Erspamer (31)].

Das Formalin greift nicht die OH-Gruppen des Phenolkerns an; die Diazoreaktion bleibt deshalb fast unverändert und positiv fällt auch immer, obwohl mit bräunlicherem Farbton, die Jodreaktion aus.

Alle in diesem Paragraphen gemachten Betrachtungen beziehen sich hauptsächlich auf die aktive Form des Enteramins der Kaninchenmagenextrakte. Die inaktive, durch Alkalibehandlung aktivierbare Form des Enteramins ist natürlich auch chemisch von der aktiven Form verschieden. Worin die Unterschiede liegen, ist gegenwärtig nicht möglich zu wissen.

8. Das wahrscheinliche Vorhandensein in dem Molekül unseres Di- oder Polyphenols von einer oder von mehreren aktiven Aminogruppen und der Umstand, daß das Di- oder Polyphenol zum ersten Male in Extrakten der Magendarmschleimhaut aufgefunden worden ist, rechtfertigen die von Vialli und mir für das neue Di- oder Polyphenolderivat vorgeschlagene Bezeichnung „Enteramin".

Zusammenfassung.

1. Die darm- (Ratten- und Mäusedünndarm), uterus- (Ratten- und Mäuseuterus) und kreislaufaktive (Kaninchenblutdruck) Substanz der Kaninchenmagenextrakte ist mit dem Di- oder Polyphenolderivat zu identifizieren, der mittels chemischer Farbreaktionen und mittels der Fluoreszenzreaktion in denselben Extrakten von Vialli und Verfasser aufgefunden worden ist.

2. Die wirksame Substanz ist bei neutraler Reaktion sehr thermostabil.

Bei stark saurer Reaktion wird sie angegriffen, doch bleibt, selbst nach 1stündigem Kochen mit n HCl noch etwa 25—40% der Ausgangsaktivität übrig.

3. Durch Kochen mit 0,1 n oder n NaOH wird die Wirksamkeit der Kaninchenmagenextrakte zuerst erheblich gesteigert, später jedoch abgeschwächt.

Es wird daraus geschlossen, daß das Enteramin in den Kaninchenmagenextrakten unter zwei chemisch voneinander verschiedenen Formen vorliegt. Die eine Form ist schon für sich selbst aktiv, die andere ist für sich inaktiv, kann aber durch geeignete Alkalibehandlung aktiviert werden.

Beide Formen geben, höchstwahrscheinlich, die für unseren Di- oder Polyphenolstoff charakteristischen Farbreaktionen.

4. Die aktive Substanz ist stark an Tierkohle und Tonsil adsorbierbar. Sie wird durch Desaminieren sowie durch Benzoylieren vollkommen inaktiviert. Auch ist sie gegen Formaldehyd, Kaliumjodat, Diazoniumsalze und ultraviolette Strahlen nicht resistent. Von Histaminase wird sie dagegen nicht angegriffen.

Auf Grund seiner chemischen und biologischen Eigenschaften kann der neue Stoff von allen bekannten Wirkstoffen scharf abgegrenzt werden.

5. Höchstwahrscheinlich sind in dem Molekül des neuen Di- oder Polyphenolderivats eine oder mehrere Aminogruppen vorhanden, die für die Entfaltung seiner Wirksamkeit von entscheidender Bedeutung sein müssen.

Das Di- oder Polyphenolderivat, für welches Vialli und Verfasser die Bezeichnung „Enteramin" vorgeschlagen haben, darf daher der Gruppe der „biogenen Amine" zugeschrieben werden.

Literatur.

1) Abelous, I., et R. Delas: C. r. Soc. Biol. **94**, 999 (1926). — 2) Aiazzi Mancini, M.: Arch. Sci. biol. (It.) **9**, 281 (1927). — 3) Best, C. H., a. E. W. Mc Henry: J. Physiol. (Brit.) **70**, 349 (1930). — 4) Bischoff, F., a. A. H. Elliot: J. biol. Chem. (Am.) **109**, 419 (1935); **117**, 7 (1937). — 5) Collip, I. B.: J. Physiol. (Brit.) **66**, 416 (1928); Amer. J. Physiol. **85**, 360 (1928). — 6) Cramer, W.: J. Physiol. (Brit.) **42**, P 36 (1901). — 7) De Barbieri, A.: Rass. Clin. ecc. **36**, 1 (1937). — 8) Dragstedt, C. A., a. F. B. Mead: J. Immunol. (Am.) **30**, 319 (1936). — 9) Erspamer, V.: Arch. Sci. Biol. (It.) **26**, 295 (1940). — 10) Euler, U. S. v., a. J. H. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **72**, 74 (1931). — 11) Euler, U. S. v.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 181 (1936). — 12) Euler, U. S. v.: Ebenda **175**, 78 (1937); J. Physiol. (Brit.) **81**, P 21 (1935); **88**, 213 (1937). — 13) Feldberg, W., u. E. Schilf: Histamin. Berlin, Jul. Springer, 1930. — 14) Felix, K., u. A. v. Putzer-Reybegg: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **164**, 402 (1932); **169**, 214 (1933). — 15) Gaddum, J. H.: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig, G. Thieme, 1936. — 16) Gaddum, J. H., a. H. Schild: J. Physiol. (Brit.) **83**, 1 (1934/35). — 17) Guggenheim, M.: Biochem. Z. **51**, 369 (1913). — 18) Guggenheim, M.: Die biogenen Amine. Berlin, Jul. Springer, 1924. — 19) Heller, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 127 (1935). — 20) Hessel, G.: Klin. Wschr. I, **843** (1938). — 21) Ivy, A. C., G. Kloster, H. C. Lueth a. G. E. Drewyer: Amer. J. Physiol. **91**, 336 (1930). — 22) Keeton, R. W., F. C. Koch a. A. B. Luckardt: Ebenda **52**, 508 (1920). — 23) Kendall, A. J.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **24**, 316 (1927). — 24) Koepf, G. F., a. J. F. Mezen: J. Pharmacol. (Am.) **60**, 407 (1937). — 25) Kokas, E. v., u. G. v. Ludany: Pflügers Arch. **232**, 293 (1933); **234**, 182 (1934). — 26) La Barre, J., et J. Ledrut: Arch. internat. Physiol. **40**, 209 (1934). — 27) Lange, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **164**, 417 (1932). — 28) Rigler, R.: Kreislaufwirksame Gewebsprodukte. Heffters Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk, 7. Bd. Berlin, Jul. Springer, 1937. — 29) Santenoise, D., Th. Brien et E. Stankoff: C. r. Soc. Biol. **121**, 1420 (1936); **124**, 127 (1937). — 30) Schaumann, O.: Wirkstoffe des Hinterlappens der Hypophyse. Heffters Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk, 3. Bd. Berlin, Jul. Springer, 1937. — 31) Vialli, M., e V. Erspamer: Arch. di Fisiol. **40**, 293 (1940). — 32) Vialli, M., u. V. Erspamer: Biochem. Z. (im Druck). — 33) Werle, E.: Biochem. Z. **287**, 235 (1936). — 34) Werle, E.: Ebenda **289**, 217 (1937). — 35) Werle, E., u. M. Grunz: Ebenda **301**, 429 (1939). — 36) Wollheim, E., u. K. Lange: Dtsch. med. Wschr. I, 572 (1932). — 37) Wollheim, E.: Acta med. scand. (Schwd.) **91**, 1 (1937). — 38) Zipf, K., u. E. Bartscher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 592 (1933). — 39) Erspamer, V.: Ebenda **196**, 343 (1940). — 40) Nasset, E. S.: Amer. J. Physiol. **121**, 481 (1938). — 41) Erspamer, V.: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **15**, 828 (1940). — 42) Erspamer, V.: Arch. Sci. Biol. (It.) (im Druck). — 43) Loewi, O., u. H. Hellauer: Pflügers Arch. **240**, 449 (1938). — 44) Kahane, E., et J. Levy: Ann. Physiol. (Fr.) **14**, 575 (1938). — 45) Inouye, K.: Z. physiol. Chem. **83**, 79 (1912).

Aus dem Pharmakologischen Institut der kgl. Universität Rom.
(Vorstand: Prof. Dr. Pietro Di Mattei.)

Pharmakologische Studien über Enteramin.

III. Mitteilung: Über das Vorhandensein eines enteraminähnlichen Stoffes in Milzextrakten.

Von

Vittorio Erspamer.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 31. Juli 1940.)

Aus neueren Untersuchungen von Vialli und mir[1,2,3,4] ergibt sich, daß Acetonextrakte der Magendarmschleimhaut (mit besonderer Sorgfalt wurden Kaninchenmagenextrakte studiert) einen bis jetzt unbekannten Di- oder Polyphenolstoff enthalten.

Die neue Substanz, von uns mit dem Namen „Enteramin" bezeichnet, zeigt eine Reihe von charakteristischen Farbreaktionen (Diazoreaktion, Jodatreaktion, Fluoreszenzreaktion) und biologischen Reaktionen (erregende Wirkung auf den atropinisierten Rattendünndarm und auf den atropinisierten Rattenuterus, senkende Wirkung auf den Blutdruck des atropinisierten Kaninchens), die eine scharfe Abgrenzung des Enteramins von den anderen darm-, uterus- und kreislaufaktiven Gewebsprodukten ermöglichen. In einer vorigen Mitteilung[4] wurde auch über einige biochemische Eigenschaften des Enteramins berichtet. Es konnten für die neue Substanz weitere sichere Charakterisierungs- und Abgrenzungskriterien geschaffen werden und es konnte auch ein weiterer Fortschritt in unseren Kenntnissen über die Natur der im Molekül des Di- oder Polyphenolstoffs vorhandenen aktiven Gruppen gemacht werden (Nachweis der Existenz von einer oder mehreren Aminogruppen). Es gelang überdies festzustellen, daß mindestens in den Kaninchenmagenextrakten das Enteramin unter zwei Formen vorliegt: die eine ist schon für sich selbst biologisch aktiv, die andere ist für sich inaktiv, ist aber durch geeignete Alkalibehandlung aktivierbar. Auch die inaktive Form scheint die charakteristischen Farbreaktionen geben zu können.

In unseren ersten Versuchen über das Enteramin gingen wir vom Standpunkt aus, diese Substanz könnte nur in den „typischen" enterochromaffinen Zellen des Magendarmkanals vorhanden sein, und es könnten

[1] Vialli, M., e. V. Erspamer: Boll. Soc. med.-chir. Pavia **51**, 357 (1937). — [2] Vialli, M., u. V. Erspamer: Biochem. Z. (im Druck). — [3] Erspamer, V.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 343 (1940). — [4] Erspamer, V.: Ebenda **196**, 366 (1940).

deshalb nur aus mit „typischen" enterochromaffinen Zellen versehenen Geweben und Organen enteraminhaltige Extrakte gewonnen werden.

Solche Annahme mußte später abgeändert werden, insofern es festgestellt wurde, daß Enteramingehalt der verschiedenen Magenextrakte und vorhandene Menge von „typischen" enterochromaffinen Zellen in der extrahierten Schleimhaut nicht immer im richtigen Verhältnis zueinander standen.

Daraus die Möglichkeit des Vorkommens von Enteramin in anderen Gewebs- oder Organauszügen und daraus die Notwendigkeit von geeigneten Kontrollversuchen. Diese sind mit chemischen und biologischen Methoden durchgeführt worden: nur in den Milzextrakten, unter allen zahlreichen untersuchten Extrakten, konnte die Existenz einer Substanz nachgewisen werden, die dieselben chemischen und biologischen Reaktionen des Enteramins zeigte, die also als „enteraminähnlich" angesehen werden durfte[5].

Über die Resultate der chemischen Farbreaktionen, der Fluoreszenzreaktion, der Elektrodialyse ist schon in einer gemeinsam mit Vialli durchgeführten Arbeit[2] eingehend berichtet worden.

Hier soll ausführliche Rede über die Ergebnisse der biologischen Untersuchungen sein. Die besonders in Betracht gezogenen Probleme sind folgende:

a) Zeigt jene Substanz, welche in den Milzextrakten die Farbreaktionen des Enteramins gibt, auch dieselbe biologische Aktivität des Enteramins?

b) Ist der enteraminähnliche Stoff in allen Milzextrakten vorhanden?

c) Wie beträgt sich der enteraminähnliche Stoff den zur Charakterisierung des Enteramins angewandten Behandlungen gegenüber?

d) Gibt es auch in den Milzextrakten, so wie in den Kaninchenmagenextrakten, eine biologisch inaktive Enteraminform?

e) Soll man endlich einen Unterschied zwischen Enteramin und enteraminähnlichem Stoff der Milz aufrechthalten, oder sind nicht eher beide Substanzen miteinander zu identifizieren?

Es soll hier noch erwähnt werden, daß es Vialli und mir[2] auf keine Weise gelungen ist, in der Milz enterochromaffine Zellen oder den enterochromaffinen Zellen homologierbare Elemente hystochemisch nachzuweisen.

Herstellung der Extrakte.

Sie ist auf gewöhnliche Weise[2, 3] durchgeführt worden.

Für die Milz von Rind II hat man z. B. folgendermaßen verfahren: 1200 g eines lebensfrischen, von der Kapsel befreiten Organs werden nach Feinverteilung mit 3000 ccm Aceton versetzt. Man läßt 3 Tage stehen. Man filtriert sämtliche Flüssigkeit, auch die durch Auspressen des Milzbreies gewonnene. Das Filtrat wird im Vakuum bis beinahe zur

[5] Erspamer, V.: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **15**, 828 (1940).

Trockne eingedickt. Der Rückstand wird mit dest. Wasser aufgenommen und mehrmals, zur Entfernung der Fette, in einem Schütteltrichter mit Petroläther geschüttelt. Die wässerige Flüssigkeit wird wiederum im Vakuum zur Trockne verdampft; der Rückstand wird mit 40 ccm dest. Wasser + 60 ccm 95%igem Alkohol + 500 ccm Aceton aufgenommen. Der Acetonzusatz verursacht starke Trübung und Bildung eines reichlichen, gelb-bräunlichen und zähen Niederschlages (16,5 g). Nach 24stündigem Stehen ist die Flüssigkeit ganz klar geworden; sie wird alsdann dekantiert und in einer dunklen Flasche aufbewahrt.

Portionen des auf diese Weise hergestellten Extraktes (1 ccm davon entspricht 2 g Milz und läßt einen 6,2 mg schweren Trockenrückstand zurück) werden gerade vor dem Gebrauch zur Trockne verdampft.

Auch der durch Aceton gefällte Niederschlag wird in 60%igem Alkohol aufgenommen und für einige Kontrollversuche benutzt.

In ganz ähnlicher Weise sind alle anderen Milzextrakte hergestellt worden: noch von Rind (Rind I = 54 g; Rind III = 115 g), von Kalb (40 g), von Kaninchen (92 g = 68 Milzen), von Katze (10.75 g), von Hund (50 g), von Pferd (Pferd I = 35 g, Pferd II: Stücke aus drei verschiedenen Milzen = 67 g), von Schwein (83 g) von Schaf (57 g), von Ratte (15,20 g = = 15 Milzen), von Taube (3,16 g = 19 Milzen), von Affe [Macacus cynomolgus] (13.7 g = 3 Milzen) und von Mensch (150 g: Milz eines 62jährigen, wegen Apoplexie gestorbenen Weibes: Entnahme des Organs 6 Stunden nach dem Tode).

Vor den biologischen Prüfungen sind an allen Extrakten die chemischen Farbreaktionen (verschieden modifizierte Diazoreaktion, Kaliumjodatreaktion) und die Fluoreszenzreaktion durchgeführt worden.

Über die Positivität und über die Intensität der Reaktionen ist schon ausführlich in früheren Arbeiten [5, 2] berichtet worden: viele Daten sind übrigens nochmals in der ersten Tabelle wiedergegeben.

Hier sei noch erwähnt, daß alle hergestellten Milzextrakte lange Zeit biologisch und chemisch (Farbreaktionen) unverändert blieben.

Biologische Wirkungen der Extrakte.

1. Biologische Prüfung der Rindmilzextrakte.

Mit besonderer Aufmerksamkeit ist der Milzextrakt von Rind II studiert worden. In Hinsicht auf die Zwecke der gegenwärtigen Versuche und auf Grund meiner eigenen Erfahrung über Enteramin und enteraminähnliche Stoffe sind die biologischen Prüfungen auf wenige Testobjekte beschränkt worden: Rattendünndarm, Rattenuterus, Kaninchendünndarm, Kaninchenblutdruck und Katzenblutdruck.

a) Rattendünndarm*.

Die Milzauszüge wirken auf solches Organ stark erregend. Es erscheint, nach Zusatz von 0,1—0,01 ccm Extrakt (1 ccm = 1 g Milz), sofort eine erhebliche, den Höhepunkt schnell erreichende Tonuszunahme (Abb. 6 und 7). Oft werden auch die gewöhnlich schwachen Spontankontraktionen mehr oder weniger stark gefördert.

Der Rattendünndarm reagiert auf Milzextrakte qualitativ ganz gleich wie auf Kaninchenmagenextrakte[3].

Die erregende Wirkung großer Extraktmengen (0,1—0,2 ccm) wird durch Atropin ein wenig abgeschwächt, jene kleiner Extraktmengen (0,01 ccm) ist anscheinend atropinunempfindlich.

Auswaschen mit frischer Tyrodelösung bewirkt eine schnelle und vollkommene Erschlaffung des kontrahierten Organs.

Die Milzextraktwirkung ist am gleichen Darmpräparat wiederholt zu erhalten: gleiche Extraktmengen wirken ungefähr gleich stark tonussteigernd. Es ergibt sich daraus die Möglichkeit, verschiedene oder verschieden behandelte Extrakte miteinander zu vergleichen und ihren Gehalt an aktiver Substanz in bezug auf einen Vergleichsextrakt auszuwerten.

Der wahrscheinliche Fehler der Auswertung beträgt gewöhnlich nicht über 20—30%. Die Milzextrakte erweisen sich bei gleich starken Farbreaktionen biologisch viel wirksamer als die entsprechenden Kaninchenmagenextrakte. Dies geht aus der Tabelle 1 klar hervor: der Milzextrakt von Rind II kontrahiert den Rattendünndarm bedeutend stärker als der gleich konzentrierte Kaninchenmagenextrakt, obwohl für den ersten die Intensität der Diazoreaktion nach Gebauer-Fulnegg nur etwa die Hälfte derjenigen des zweiten beträgt.

Der bei der groben Reinigung der Extrakte sich bildende Niederschlag ist sowohl auf den Rattendünndarm als auch auf den Rattenuterus fast wirkungslos.

b) Rattenuterus.

Nur die Organe von Brunsttieren, und vielleicht auch jene von hochschwangeren Tieren, reagieren kräftig und beständig auf die Milzextrakte (0,1—0,01 ccm eines Extraktes, von welchem 1 ccm = 1 g Milz).

Unter mehr oder weniger ausgesprochener Steigerung des Muskeltonus (große Gaben erregen den Uterus zu wehenartigen oder tonischen Kontraktionen für die Dauer von über 10—20 Minuten) nehmen die Spontankontraktionen an Zahl und Amplitude zu, oder die schon erloschenen Kontraktionen werden zum Wiedererscheinen gebracht (Abb. 1 und 9).

Die Atropinisierung der Badeflüssigkeit ist ohne Einfluß auf die Wirkung der Extrakte. Da durch wiederholtes Hinzufügen gleicher Extrakt-

---

* Alle Organe wurden in einem kleinen Tyrode-Bade aufgehängt. Temperatur: 36—37°. Luftdurchperlung.

mengen auch am Uterus ungefähr ähnliche Antworten zu erhalten sind, so eignet sich auch dieses Organ zur Auswertung des Gehaltes von Milzauszügen an aktiver Substanz. Bei gleicher Intensität der Farbreaktionen kontrahiert der Milzextrakt den Uterus viel stärker als der Kaninchenmagenextrakt.

Der Uterus bietet gegenüber dem Darm den Vorteil einer viel größeren Resistenz (er kann auch mit vorzüglichen Resultaten für 5—6 Stunden arbeiten) den Nachteil dagegen einer geringeren Empfindlichkeit.

c) Kaninchendünndarm.

Unter Einwirkung von 0,1—0,2 ccm Extrakt (1 ccm = 1 g Milz) kommt es an nicht atropinisierten Präparaten zu einer erheblichen Tonuszunahme, zugleich auch mitunter zu einer Vergrößerung der Pendelbewegungen. Nach Atropinzusatz sind dieselben Extraktgaben ohne schätzbaren Einfluß auf Tonus und Pendelbewegungen.

d) Kaninchenblutdruck.

Die intravenöse Injektion von 1 ccm Extrakt (1 ccm = 2 g Milz) bewirkt beim urethannarkotisierten (1.5 g/kg) und atropinisierten (3 bis 4 mg/kg, subcutan) Kaninchen einen erheblichen Blutdruckabfall (Abb. 2). Solcher ist qualitativ jenem ähnlich, der durch Injektion von Kaninchenmagenextrakten zu erzeugen ist. Auch die blutdrucksenkende Aktivität der Milzextrakte ist aber bei gleicher Intensität der chemischen Farbreaktionen und der Fluoreszenzreaktion bedeutend größer als diejenige der Kaninchenmagenextrakte.

e) Katzenblutdruck.

Auch bei der urethannarkotisierten und atropinisierten Katze senken 1 ccm Extrakt (1 ccm = 1 g Milz) intravenös injiziert deutlich den Blutdruck (Abb. 5). Milzextrakte sind wieder viel wirksamer als gleich konzentrierte Magenschleimhautextrakte.

Die Aktivität der Milzextrakte von Rind I, Rind III und Kalb weicht von derjenigen des nun studierten Extraktes von Rind II, nur quantitativ ab (siehe Tabelle 1).

2. Biologische Prüfung der aus anderen Tierarten gewonnenen Milzextrakte.

Sie wurde immer am atropinisierten Rattendünndarm und am atropinisierten Rattenuterus, manchmal auch am Blutdruck des atropinisierten Kaninchens vorgenommen. Sämtliche Extrakte wirken qualitativ ganz gleich wie die Rindextrakte. Über die quantitativen Ergebnisse gibt nachfolgende Tabelle Auskunft (siehe auch Abb. 1 und 2 A).

Tabelle 1.

Extrakte	Intensität der		Intensität der biologischen Aktivität auf	
	Diazoreaktion nach Gebauer-Fulnegg	Jodatreaktion	Rattendünndarm	Rattenuterus
Magenschleimhaut				
Kaninchen	100	100	100	100
Milz				
Rind I	60—70	65—75	180—200	200
„ II	40	40—50	120—130	120—130
„ III	70—80	70—80	250	250—270
Kalb	70	60—70	200—210	200—220
Kaninchen	200—220	220—240	500	500
Katze	75—80	70—80	100—120	110
Hund	10—20	nicht bestimmbar	20	15—20
Pferd I	25—30	25—30	25	25—30
„ II	15	nicht bestimmbar	10—12	10—15
Schwein	20—25	20	20	15—20
Schaf	50—60	50—60	120—130	130
Ratte	10	negativ	10—15	—
Taube	5	„	5—10	
Affe (Macacus cynomolgus)	7	„	10	10
Mensch	10—20	nicht bestimmbar	20	15—20

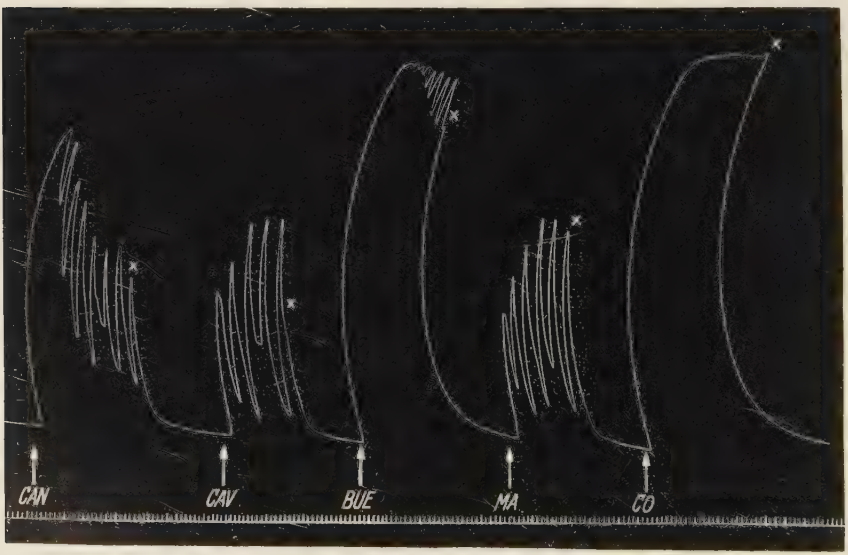


Abb. 1. Wirkung von verschiedenen Milzextrakten auf den atropinisierten Rattenuterus (Brunsttier).
CAN = 0,1 ccm Milzextrakt von Hund (1 ccm = 1 g Milz).
CAV—BUE—MA—CO = dieselbe Menge Milzextrakt von Pferd II (*CAV*), Rind II (*BUE*), Schwein (*MA*) und Kaninchen (*CO*).
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

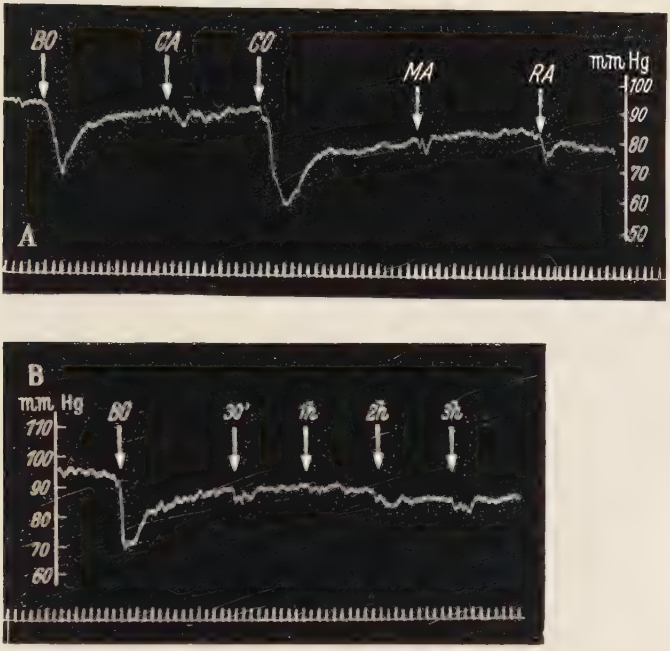


Abb. 2. Carotisdruck eines 2,5 kg schweren Kaninchens (Urethannarkose 1,5 g/kg: Atropinsulfat subcutan 3 mg/kg). Alle Injektionen intravenös.

A. Wirkung von verschiedenen Milzextrakten.
BO = 1 ccm Milzextrakt von Rind II (1 ccm = 1 g Milz).
CA—CO—MA—RA = dieselbe Menge Milzextrakt von Pferd II (*CA*), Kaninchen (*CO*), Schwein (*MA*) und Ratte (*RA*).
B. Wirkung von ultraviolettbestrahlten Rindmilzextrakten.
BO = 1 ccm Kontrollextrakt, unbehandelt.
Bei den anderen Pfeilen dieselbe Menge Extrakt nach 30, 60, 120, 180 Minuten Ultraviolettbestrahlung.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

Es sind darin nicht nur die relativen Werte, in % ausgedrückt, der biologischen Wirksamkeit angegeben, sondern auch solche der Intensität der chemischen Farbreaktionen.

Als Vergleichsextrakt (= 100) wurde der gewöhnliche Magenschleimhautextrakt[2, 3] von Kaninchen benutzt.

Alle Extrakte sind natürlich gleich konzentriert: 1 ccm = 1 g Gewebe.

Eigenschaften der aktiven Substanz der Extrakte.

Auch die Milzextrakte (von Rind II und von Kaninchen) sind jener Reihe von Behandlungen unterworfen worden, die in meiner früheren Arbeit (darauf verweise ich für alle technischen Einzelheiten) zur Charakterisierung des Enteramins und zur Abgrenzung dieser Substanz von den anderen wirksamen Gewebsprodukten angewandt worden sind.

Die Ergebnisse können sowohl für den Rind- als auch für den Kaninchenextrakt so zusammengefaßt werden:

a) Die darm- (Ratte), uterus- (Ratte) und kreislaufwirksame (Kaninchen) Substanz wird durch Desaminieren und Benzoylieren sowie durch Kaliumjodat und Diazoniumsalzen (p-Nitrobenzoldiazoniumchlorid, Diazobenzolsulfosäure) inaktiviert (Abb. 3). Nach Benzoylierung, Desaminierung und Jodatbehandlung ist auch die Diazoreaktion (p-Nitranilin) stark verändert: der sich bildende Azofarbstoff ist schwächer, hat einen anderen Farbton (bräunlich oder grünlich anstatt weinrot) und kann nicht mehr durch Amylalkohol extrahiert werden.

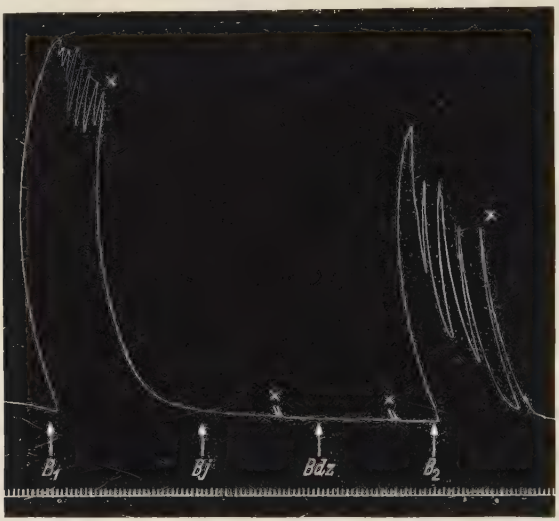


Abb. 3. Atropinisierter Rattenuterus (Brunsttier).
B_1 = 0,1 ccm Rindmilzextrakt (1 ccm = 1 g Milz), unbehandelt.
B_j —B_{dz} = dieselbe Menge Extrakt nach Behandlung mit Kaliumjodat (B_j) und nach Kupplung mit p-Nitrobenzoldiazoniumchlorid (B_{dz}).
B_2 = 0,01 ccm Rindmilzextrakt, unbehandelt.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

b) Auch nach Ultraviolettbestrahlung (bei Luftgegenwart) tritt Abschwächung und dann Zerstörung der biologischen und chemischen Reaktionen der Extrakte ein (Abb. 2 B und Abb. 4).

Nur die senkende Wirkung auf den Blutdruck der atropinisierten Katze bleibt, auch nach längerer Bestrahlung, fast unverändert (Abb. 5).

Niemals sind durch ultraviolettbestrahlte Extrakte adrenalinähnliche Effekte zu erzielen (vgl. Erspamer[6]).

c) Nach Behandlung mit Formalin $^1/_{100}$ (20 Minuten bei 60°) sind die Milzextrakte völlig inaktiviert; nach Formalin $^1/_{1000}$ bleibt etwa 30% der Ausgangsaktivität übrig; Formalin $^1/_{10000}$ ist wirkungslos. Formalin $^1/_{10000}$ und $^1/_{1000}$ verändern weder qualitativ noch quantitativ die Diazoreaktion und die Jodatreaktion. Nach Formalin $^1/_{100}$ nimmt die Jodatreaktion

[6] Erspamer, V.: Arch. di Sci. biol. (It.) **26** (1940).

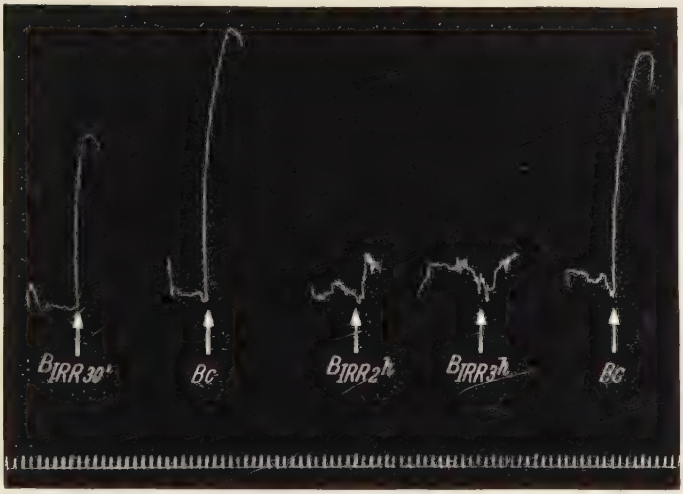


Abb. 4. Atropinisierter Rattendünndarm.
B_C = 0,01 ccm Rindmilzextrakt (1 ccm = 1 g Milz), unbehandelt.
$B_{IRR\,30'}$ = dieselbe Menge Extrakt nach 30 Minuten Ultraviolettbestrahlung.
$B_{IRR\,2h}$, $B_{IRR\,3h}$ = 0,1 ccm Extrakt nach 2- bzw. 3stündiger Ultraviolettbestrahlung.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

einen bräunlicheren Ton an, und die Diazoreaktion fällt um 20—25% schwächer aus.

Abb. 5. Carotisdruck einer 2,2 kg schweren Katze (Urethannarkose 1,5 g/kg; Atropinsulfat 0,5 mg/kg subcutan). Alle Injektionen intravenös.
M = 1 ccm Rindmilzextrakt (1 ccm 1 g Milz), unbehandelt.
M_1 = dieselbe Menge Extrakt nach 2 Stunden Ultraviolettbestrahlung.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

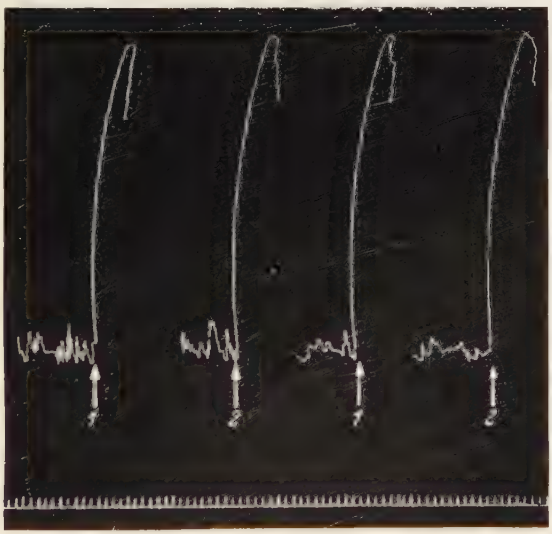


Abb. 6. Atropinisiertes Rattenduodenum.
1 = 0,1 ccm Rindmilzextrakt (1 ccm = 0,1 g Milz), unbehandelt.
2 = dieselbe Menge Extrakt nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur, mit n NaOH.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

d) Die Ergebnisse der sowohl bei Zimmertemperatur wie auch bei 100° durchgeführten Behandlung mit n HCl und n NaOH sind in der nachstehenden Tabelle 2 wiedergegeben (vgl. auch Abb. 6 und 7).

e) Die aktive Substanz der Milzextrakte ist an Tierkohle leicht adsorbierbar (p_H 1 – 14). Die Elution ist bisher nicht gelungen. Auch Tonsil adsorbiert sehr stark, nicht dagegen Calciumcarbonat und Neutralon

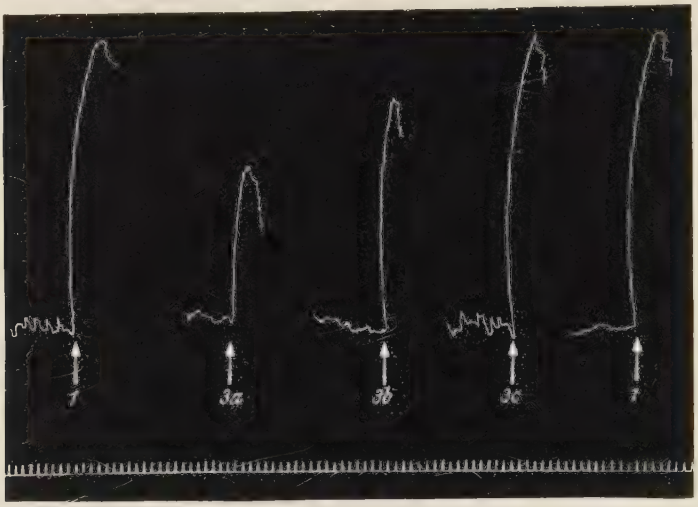


Abb. 7. Atropinisiertes Rattenduodenum.
1 = 0,1 ccm Rindmilzextrakt (1 ccm = 0,1 g Milz), unbehandelt.
3 a, 3 b, 3 c = 0,1, 0,2, 0,3 ccm Extrakt nach 1stündiger Behandlung, bei 100°, mit n HCl.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

Tabelle 2.

	Aktivität übrig in % nach		
	20 Min. bei 100°	60 Min. bei 100°	24 Std. bei Zimmertemperatur
n HCl	55–70	30–40	70–75
Destilliertes Wasser	100	100	100
n NaOH	100	90–100	90–100

Schering (synthetisches Aluminiumsilikat). Nach Kohle- oder Tonsiladsorption fallen in den Extrakten die Farbreaktionen des enteraminähnlichen Stoffes negativ aus.

f) Histaminasebehandlung (Torantil Bayer) ist ohne Einfluß auf die Milzextrakte: biologische Aktivität und chemische Farbreaktionen bleiben unverändert (Abb. 8).

Leichte Verfügbarkeit von großen Mengen Rindmilz (was z. B. nicht der Fall für den Kaninchenmagen und für die Kaninchenmilz ist) und reichlicher Gehalt derselben an aktiver Substanz begünstigten auch das

Studium der Resistenz der aktiven Substanz gegenüber Autolyse- und Fäulnisvorgängen. Das Problem hat nicht nur theoretische, sondern auch praktische Bedeutung.

Eine dicke, 350 g schwere Milzscheibe (Rind II) wird mit einem befeuchteten (physiologische Kochsalzlösung) Tuch umwickelt und in freier Luft stehen gelassen. Der Versuch ist Ende April durchgeführt worden (durchschnittliche Außentemperatur: 10—15°). 40 g schwere Milzfragmente werden nach 1, 2, 3, 5, 7, 9 Tagen entnommen. Nach Feinverteilung werden sie mit 120 ccm Aceton versetzt, 48 Stunden extrahiert und dann weiter wie gewöhnlich bearbeitet.

Die nach 1—2 Tagen entnommenen Milzstücke haben einen fast normalen Geruch und sehen normal aus. Ein leichter Fäulnisgeruch ist erst nach 3 Tagen wahrnehmbar. Er nimmt alsdann nach und nach zu und wird binnen 7—9 Tagen ekelhaft. Die Milz färbt sich zur selben Zeit bräunlich, wird weichlich und von zahlreichen Fliegeneiern und später Fliegenlarven bedeckt.

Die Resultate der chemischen Farbreaktionen und der am atropinisierten Rattenuterus und am atropinisierten Rattendünndarm vorgenommenen biologischen Prüfungen sind in der Tabelle 3 zusammengestellt.

Abb. 8. Atropinisiertes Rattenduodenum.
1 = 0,1 ccm Rindmilzextrakt (1 ccm = 1 g Milz), unbehandelt.
2 dieselbe Menge Extrakt nach Histaminasebehandlung.
Zeitzeichen: 10 Sekunden.

Tabelle 3.

Herstellung der Extrakte nach Tagen	Intensität in % der		Biologische Aktivität in % auf	
	Diazoreaktion nach Gebauer-Fulnegg	Jodatreaktion	Rattenduodenum	Rattenuterus
0 (Kontrolle)	100	100	100	100
1	80—85	80	90	90—95
2	75—80	75	80	80
3	70—75	70	70	75
5	60—65	60	60	60—65
7	40—45	45	40	35—40
9	30	20—30	20—30	25—30

Ausbeute an wirksamer Substanz nach Behandlung der Milz mit verschiedenen Extraktionsmitteln.

Es wurden zwei Versuchsreihen angestellt; die eine mit Rindmilz, die andere mit Kalbmilz.

Eine dicke Milzscheibe, oder beim Kalb das ganze Organ, wurde von dem anhaftenden Gewebe befreit und ganz fein zerkleinert. Aus dem gut vermischten Brei wurden mehrere 50 g schwere Fraktionen entnommen und mit 120 ccm Aceton (Vergleichsextraktion) bzw. Äthylalkohol, Methylalkohol, 10%iger Trichloressigsäure, n/200 HCl und dest. Wasser versetzt.

Die zwei letztgenannten Extrakte wurden sofort 30 Minuten auf dem siedenden Wasserbad gekocht.

Dann wurden sämtliche Extrakte 48 Stunden stehen gelassen.

Nach Filtrieren und Auspressen des entsprechenden Milzbreies werden alle Extrakte unter vermindertem Druck bei 35—40° zur Trockne verdampft und dann weiter wie gewöhnlich bearbeitet.

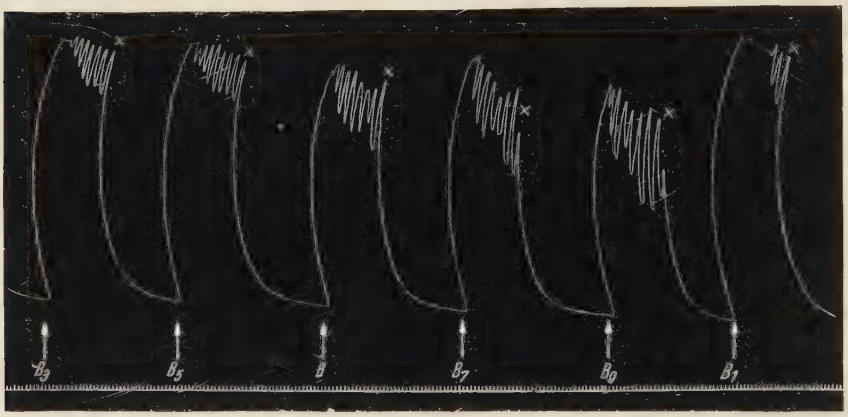


Abb. 9. Atropinisierter Rattenuterus (Brunsttier).
B = 0,05 ccm Kontrollrindmilzextrakt (1 ccm = 1 g Milz), sofort nach der Tötung des Tieres hergestellt. $B_1 — B_3 — B_5 — B_7 — B_9$ = 0,1 ccm Extrakt, 1 bzw. 3, 5, 7, 9 Tage nach der Tötung des Tieres hergestellt. Zeitzeichen: 10 Sekunden.

Der Trichloressigsäureextrakt wurde vor der Verdampfung von der Trichloressigsäure mittels Äthyläther befreit und der HCl-Extrakt mit NaOH neutralisiert.

Sämtliche Flüssigkeiten sind mehr oder weniger stark gelblich; nur der Trichloressigsäureextrakt ist fast farblos.

Die Ergebnisse der Farbreaktionen und der biologischen Prüfungen sind tabellarisch wiedergegeben.

Tabelle 4.

Extraktionsflüssigkeit	Intensität in % der		Biologische Aktivität in % auf den Rattenuterus
	Diazoreaktion nach Gebauer-Fulnegg	Jodatreaktion	
Aceton	100	100	100
Äthylalkohol	80—90	90—90	70—80
Methylalkohol	50	50	40
n/200 HCl	70—80	65—75	60—65
10%ige Trichloressigsäure	< 10	0	< 5
Destilliertes Wasser	30—50	30—50	40

Erörterung der Befunde.

1. Aus vorliegenden Untersuchungen ergibt sich, daß sämtliche geprüften Milzextrakte den atropinisierten Rattendünndarm und den atropinisierten Rattenuterus mehr oder minder stark kontrahieren und den Blutdruck des atropinisierten Kaninchens deutlich senken.

Am meisten wirksam sind die Kaninchenmilzextrakte: empfindliche Darmstücke reagieren sogar auf den aus 0,1—0,2 mg Milz gewonnenen Auszug. Eine erhebliche Aktivität weisen auch die Extrakte von Rind, Schaf und Katze auf, sehr wenig aktiv ist dagegen der Taubenextrakt.

Auch solche Auszüge, die aus verschiedenen Individuen derselben Tierart (Rind, Pferd) hergestellt worden sind, zeigen starke Schwankungen im Gehalt an aktiver Substanz.

2. Wir können mit Grund annehmen, daß die uterus-, darm- und kreislaufaktive Substanz der Milzextrakte mit dem enteraminähnlichen Stoff zu identifizieren ist, der mittels chemischer Farbreaktionen von Vialli und mir[5,2] in denselben Extrakten nachgewiesen worden ist. Ein solcher Schluß wird nicht nur durch die Ergebnisse meiner früheren Untersuchungen über die Acetonextrakte der Kaninchenmagenschleimhaut und der hinteren Speicheldrüsen von Octopus vulgaris[7,8] berechtigt, sondern auch und hauptsächlich durch einige im Laufe der gegenwärtigen Versuche festgestellten Tatsachen. Es konnte nämlich bewiesen werden:

a) daß ein enger Zusammenhang zwischen mittels Farbreaktionen festgestelltem Gehalt an enteraminähnlichem Stoff und biologischer Aktivität besteht;

b) daß sämtliche Behandlungen, die imstande sind, den enteraminähnlichen Stoff chemisch anzugreifen, auch eine vollständige biologische Inaktivierung der Extrakte mit sich bringen (Desaminierung, Benzoylierung, Kupplung mit Diazoniumsalzen, Ultraviolettbestrahlung, Jodatbehandlung).

Der enteraminähnliche Stoff ist also für die Wirkungen auf die Rattenorgane und auf den Kaninchenblutdruck verantwortlich zu halten; nicht aber für die erregende Wirkung auf den Kaninchendünndarm und für die senkende Wirkung auf den Blutdruck der atropinisierten Katze.

Letztere bleibt auch nach längerer Ultravioletthestrahlung der Extrakte unverändert oder fast unverändert: man darf deshalb denken, daß bei ihrer Erzeugung andere Wirkstoffe die wichtigste Rolle spielen (Histamin, Adenosinverbindungen). Die erregende Wirkung auf den Kaninchendarm ist atropinempfindlich: sie soll wohl dem immer in Milzextrakten reichlich vorhandenen Azetylcholin zugeschrieben werden.

3. Man hat immer sowohl in dieser als auch in anderen Arbeiten[5,2] von einem „enteraminähnlichen" Stoff der Milzextrakte gesprochen.

[7] Vialli, M., e. V. Erspamer: Arch. di Fisiol. **40**, 293 (1940). — [8] Erspamer, V.: Arch. di Sci. biol. (It.) **26** (1940).

Darf solcher Stoff mit dem Enteramin der Magendarmextrakte identifiziert werden?

Auf Grund sämtlicher bisher durchgeführten Versuche sollte man die Frage mit einem Ja beantworten.

Was die chemischen Farbreaktionen und die Fluoreszenzreaktion betrifft, so gelang es Vialli und mir[2] nicht den geringsten Unterschied zwischen dem Enteramin der Kaninchenmagenextrakte und dem enteraminähnlichen Stoff der Milzextrakte aufzufinden.

Ähnliche Resultate sind auch bei den biologischen Prüfungen der Extrakte erhalten worden. Die biologische Aktivität des Enteramins erwies sich durchaus identisch mit jener des enteraminähnlichen Stoffes. Beide Substanzen sind in der Tat durch dieselben charakteristischen Merkmale gekennzeichnet und entfalten ihre Wirkungen auf dieselben — und nur auf dieselben — Testobjekte.

Identisch ist auch, abgesehen von den im nächsten Paragraph zu besprechenden Unterschieden, das Verhalten beider Stoffe den verschiedenen Behandlungen gegenüber, denen die Extrakte unterworfen worden sind.

4. Zwei Beobachtungen könnten jedoch die Identifizierung des Enteramins mit dem enteraminähnlichen Stoff der Milzextrakte in Zweifel ziehen.

a) Durch geeignete, nicht zu lange Alkalibehandlung (z. B. n NaOH, 15 Minuten bei 100°) nimmt die charakteristische biologische Wirksamkeit der Kaninchenmagenextrakte erheblich zu; nicht dagegen jene der Milzextrakte von Rind und von Kaninchen, welche unter denselben Bedingungen unverändert bleibt oder öfters leicht abnimmt.

b) Die Milzextrakte von Kaninchen und von Rind sind bei gleich intensiven Farbreaktionen (und deshalb wahrscheinlich bei gleich reichlichem Gehalt an Di- oder Polyphenolstoff) biologisch viel wirksamer als die Kaninchenmagenextrakte.

Um die durch Alkalibehandlung bedingte Aktivitätssteigerung zu erklären, wurde zu seiner Zeit in den Kaninchenmagenextrakten die Existenz von zwei Enteraminformen angenommen; die eine Form würde schon für sich selbst biologisch aktiv, die andere für sich inaktiv sein, würde aber auf gegenwärtig nicht näher bestimmbare Weise durch Alkali aktivierbar sein.

Die Möglichkeit, daß die Alkalibehandlung bloß die Wirksamkeit des gesamten in den Extrakten vorhandenen Enteramins steigerte, wurde als unwahrscheinlich abgelehnt.

Die Tatsache, daß unter den gleichen experimentellen Bedingungen die Milzextrakte von Rind und Kaninchen an Wirksamkeit nicht zunehmen, sondern sogar an derselben abnehmen, möchte ich dadurch erklären, daß in den Milzextrakten (dies scheint übrigens auch der Fall für die Magenextrakte von Schaf und Schwein und für den Duodenalextrakt von Kalb

zu sein) die inaktive durch Alkali aktivierbare Form des Enteramins fehlt oder äußerst spärlich ist und nur die für sich aktive Form der Substanz vorliegt. Diese aber wird, wie aus meinen früheren Versuchen[4] hervorgeht, obwohl langsam, durch Alkali inaktiviert.

Die Tatsache, daß die Milzextrakte von Rind und Kaninchen bei gleich intensiven Farbreaktionen viel stärker auf die biologische Testobjekte wirken als der Kaninchenmagenextrakt, findet auch eine rationelle Erklärung, wenn man die von mir auf Grund experimenteller Ergebnisse vertretene Meinung aufnimmt, daß auch die biologisch unwirksame Form des Enteramins die charakteristischen Farbreaktionen dieser Substanz gibt. Es würde alsdann vollkommen klar sein, warum die Kaninchenmagenextrakte bei gleich starker biologischer Wirksamkeit intensivere Farbreaktionen aufweisen müssen als die Milzextrakte von Rind und von Kaninchen.

Alle bestehenden Unterschiede zwischen Kaninchenmagenextrakten und Kaninchen- bzw. Rindmilzextrakten würden kurz und gut auf die Tatsache zurückzuführen sein, daß die ersten im Gegensatz zu den zweiten eine bemerkenswerte Menge von biologisch inaktivem Enteramin enthalten und auf die Tatsache, daß auch das inaktive Enteramin die charakteristischen Farbreaktionen zeigt und imstande ist, durch Alkalibehandlung aktiviert zu werden.

Nur in den Kaninchenmagenextrakten ist bisher der Nachweis der inaktiven Enteraminform einwandfrei gelungen. Man soll übrigens gestehen, daß die zur Lösung der Frage über Vorhandensein und Bedeutung der zwei Enteraminformen in den verschiedenen Magen-, Darm- und Milzextrakten angestellten Untersuchungen nur am Kaninchenmagenextrakt und an den Milzextrakten von Kaninchen und Rind mit der notwendigen Sorgfältigkeit durchgeführt worden sind.

Aus allem Gesagten ergibt sich, daß auch die letzten Schwierigkeiten, die die Identifizierung des Di- oder Polyphenols der Milzextrakte mit dem Enteramin hinderten, überwunden worden sind.

Der Beweis der Identität beider Substanzen scheint somit erbracht worden zu sein: trotzdem halte ich es noch, in Erwartung von weiteren chemischen Untersuchungen, für angezeigt, die behutsame Bezeichnung „enteraminähnlich" für die Substanz der Milzextrakte aufrecht zu erhalten.

5. Unter allen untersuchten Extrahierungsflüssigkeiten scheint das Aceton die besten Ausbeuten an aktiver Substanz zu liefern. Auch Äthylalkohol und verdünnte Salzsäure haben sich gut bewährt.

Völlig zu verwerfen ist die Trichloressigsäureextraktion. Man kann bis jetzt nicht entscheiden, ob die Trichloressigsäure die aktive Substanz fällt (aus einigen an Acetonextrakten durchgeführten Versuchen scheint dies nicht wahrscheinlich zu sein) oder ob sie dieselbe inaktiviert.

6. Die enteraminähnliche Substanz der Rindmilzextrakte scheint eine große Resistenz den Autolyse- und Fäulnisvorgängen gegenüber zu

bieten: auch aus stark verfaulten Organen ist es noch möglich, ziemlich aktive Extrakte zu gewinnen. Noch 24—48 Stunden nach der Tötung des Tieres ist der Gehalt der Milz an enteraminähnlicher Substanz so gut wie unverändert.

Schlüsse über das Vorhandensein oder das Fehlen von Fermenten in der Milz, die die Substanz zu inaktivieren oder abzubauen vermögen, sind aus den bisherigen Versuchen nicht zu ziehen. Ein solches Problem soll mit einer anderen Arbeitsmethodik erforscht werden.

Praktisch bringt die nun erwähnte Resistenz des enteraminähnlichen Stoffes gewisse Vorteile mit sich, indem das Milzmaterial von Tieren und eventuell auch von menschlichen Leichen nicht unmittelbar nach dem Tode der Extraktion unterworfen zu werden braucht.

7. Ein Problem, das augenblicklich nur teilweise und oberflächlich berührt werden darf, ist jenes über die eventuelle Teilnahme des enteraminähnlichen Stoffes bei der Erzeugung der verschiedenen biologischen Effekte, die mittels Milzextrakte von mehreren Forschern erhalten worden sind.

Den Milzextrakten sind in der Tat Wirkungen auf den Blutkalkgehalt, auf das anorganische Serumphosphor, auf das Serumcholesterin, auf den Blutzucker, auf das Blutbild, auf die Blutgerinnung, auf die experimentelle Anaphylaxie und endlich auf das retikulo-endotheliale System zugeschrieben worden (Literatur bei Fiessinger[9], Schliephake[10], Fischer und Engel[11], Rossi[12]).

Die Besprechung aller dieser Wirkungen ist hier offenbar nicht möglich. Es liegen aber in der Literatur auch Angaben über Wirkungen von Milzextrakten auf den Blutdruck und auf isolierte überlebende Organe vor.

Obwohl es bekannt ist, daß die Milzauszüge große Mengen von anderen kreislaufaktiven Substanzen enthalten (Azetylcholin, Histamin, Adenosinverbindungen, Felix-Lange-Stoff), soll man sich doch fragen, ob nicht auch der enteraminähnliche Stoff bei der Erzeugung von solchen Effekten mitzuwirken vermag. Die Frage verdient besonders für die von Zülzer[13] und von Stern und Rothlin[14] beschriebenen Milzprodukte „Hormonal" und „Lienin" gestellt zu werden.

Leider ist auch diesmal keine endgültige Antwort möglich. Die aufmerksame Betrachtung der chemischen und biologischen Eigenschaften der von Zülzer und von Stern und Rothlin beschriebenen Produkte berechtigt jedoch die Annahme, daß die enteraminähnliche Substanz keine wichtige Rolle bei der Erzeugung der Lienin- bzw. Hormonaleffekte spielen kann.

---

[9] Fiessinger, N., et R. Cattan: J. Physiol. et Path. gen. **31**, 380 (1933). — [10] Schliephake, E.: Dtsch. Arch. klin. Med. **172**, 523 (1932). — [11] Fischer, A., u. N. Engel: Arch. internat. Pharmacodynam. **54**, 49 (1936). — [12] Rossi, R.: Folia endocrin. **18** (1965). — [13] Zülzer, G.: Berl. klin. Wschr. **46**, 2065 (1908); Dtsch. med. Wschr. **1912**, S. 1233. — [14] Stern, L., et E. Rothlin: J. Physiol. et Path. gén. **18**, 753 (1919/20).

Vom Lienin scheint sich z. B. die enteraminähnliche Substanz unter anderem auch dadurch zu unterscheiden, daß das Lienin nicht alkalibeständig ist und daß es in allen Milzextrakten in ungefähr gleicher Menge vorzukommen scheint, was nicht der Fall für unsere Substanz ist (siehe Tabelle 1).

8. In Erwartung, daß weitere schon im Gange befindliche Untersuchungen uns nähere Auskünfte über Wichtigkeit und Bedeutung des enteraminähnlichen Stoffes der Milz geben, lohnt es sich schon jetzt, unsere Aufmerksamkeit auf eine Tatsache zu richten, die durch gegenwärtige Versuche einwandfrei festgestellt worden ist: jene der Existenz von sicheren funktionellen Beziehungen zwischen Magendarmschleimhaut und Milz, einzige Gewebe, in denen bisher der Nachweis des neuen biogenen Amins gelungen ist.

Zusammenfassung.

1. In allen untersuchten Milzextrakten konnte das mehr oder weniger reichliche Vorhandensein einer neuen darm-, uterus- und kreislaufwirksamen Substanz nachgewiesen werden.

Sie ist mit dem enteraminähnlichen Stoff zu identifizieren, der mittels chemischer Farbreaktionen und mittels der Fluoreszenzreaktion in denselben Extrakten von Vialli und mir aufgefunden worden ist.

2. Der enteraminähnliche Stoff ist sehr thermostabil sowohl bei neutraler als auch bei alkalischer Reaktion, viel weniger dagegen in stark saurem Medium.

Desaminierung, Benzoylierung, Jodat- und Formolbehandlung, Kupplung mit einem Diazoniumsalz und Ultraviolettbestrahlung inaktivieren die enteraminähnliche Substanz. Histaminasebehandlung ist wirkungslos.

3. Die Extraktion des enteraminähnlichen Stoffes aus der Milz gelingt sehr gut sowohl durch Aceton (die beste der untersuchten Extraktionsflüssigkeiten) als auch durch Äthylalkohol und verdünnte Salzsäure.

Die enteraminähnliche Substanz leistet große Resistenz gegen Autolyse- und Fäulnisvorgänge.

4. Auf Grund aller seiner biologischen und chemischen Eigenschaften ist der enteraminähnliche Stoff der Milz höchstwahrscheinlich mit dem Enteramin der Magendarmschleimhaut zu identifizieren.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Frankfurt a. M.
(Direktor: Prof. Dr. Nonnenbruch.)

Der Wirkungsmechanismus eines neuen peripheren Kreislaufmittels im Vergleich mit Veritol und Sympatol beim Menschen*.

Von

Marineoberstabsarzt Dr. **F. Pohle** und Dozent Dr. **H. Sarre.**

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. August 1940.)

In mehreren kreislaufphysiologischen, tierexperimentellen Untersuchungen neuerer Zeit, vor allem von Rein und Gollwitzer-Meier, über sogenannte sympathicomimetische Kreislaufmittel ist auf die Tatsache hingewiesen worden, daß diesen Mitteln neben ihrer peripher konstringierenden und rückflußfördernden Wirkung auch ein unmittelbarer Einfluß auf den Herzmuskel selber zukommt. Dieser Einfluß erstreckt sich nach Gollwitzer-Meier und Kroetz sowohl auf die Dynamik des Herzens wie auf die Verbesserung der Coronargefäßdurchblutung und ist nach diesen Autoren sogar günstiger als beim Strophanthin. Diese unmittelbaren Herzwirkungen sind dem Arzt bei der Verordnung solcher sogenannter „peripherer Kreislaufmittel" meist nicht bewußt und er bezieht die erwünschte Blutdrucksteigerung beim Kollaps und bei der toxischen Kreislaufschwäche meist nur auf die extracardialen Wirkungen dieser Mittel. Die unmittelbare Herzwirkung kann aber bei toxischer oder sekundärer Herzschwäche bei diesen Zuständen nicht gleichgültig und oft nicht ungefährlich für das geschädigte Herz-Kreislaufsystem sein. Es war uns darum von Interesse, auch beim Menschen mit Hilfe der Methode von Wezler und Böger den Einfluß sympathicomimetischer Mittel auf die einzelnen Kreislauffaktoren genauer zu untersuchen.

Hinzu kam, daß uns ein neues blutdruckwirksames Präparat zwecks Erprobung zur Verfügung stand, welches, wie sich später herausstellte, fast nur peripher wirksam ist und darum einen guten Vergleich der Wirkungsweise herz- und kreislaufaktiver Präparate zuließ. Wenn die Versuche in dieser Arbeit nur an Rekonvaleszenten vorgenommen wurden, bei denen die Reaktionen offensichtlich sehr ähnlich den normalen ablaufen, so sind wir uns wohl bewußt, daß dies nur ein Anfang solcher pharmakodynamischer Untersuchungen an kranken Menschen ist. Ergänzt müssen sie werden durch Untersuchungen am Kollabierten und am Herzinsuffizienten.

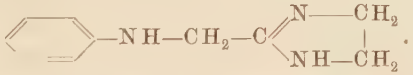
* D 30.

Ähnliche Untersuchungen wurden am Kreislaufgesunden von Wezler und Mitarbeitern vorgenommen, jedoch nicht vom therapeutischen und pharmakodynamischen Gesichtspunkt aus. Die Mittel wurden intravenös injiziert und lösten so durch stoßartige Wirkung besondere Regulationen aus. Sie wurden nur wenige Minuten beobachtet. Mit der gleichen pulsanalytischen Methode untersuchten ferner Meyer und Spiegelhoff verschiedene Kreislaufmittel, allerdings nur an einer Versuchsperson. Da periphere Kreislaufmittel meist in langsam eintretender, aber protrahierter Wirkung verwandt werden (per os, subcutan oder als Dauertropfinfusion), gingen wir von der subcutanen Injektion aus und beobachteten die Versuchspersonen über längere Zeit. Wir injizierten annähernd gleichblutdruckwirksame Mengen und verglichen in dieser Dosierung Minutenvolumen, peripheren Widerstand, Dauer der Einwirkung usw. Das gab uns ein plastischeres Bild von der Leistungsfähigkeit und den Besonderheiten verschiedener Präparate, als etwa der Vergleich nach Menge und Gewicht. Der Kreislaufanalyse seien einige allgemein klinische Untersuchungen vorausgeschickt.

A. Verträglichkeit, blutdrucksteigernde Wirkung, Pulsfrequenz, Blutzucker und Blutmenge bei Otrivin, Veritol und Sympatol.

An unserer Klinik gelangte ein neues aromatisches Imidazolderivat mit der Nr. 3124 / 1 unter dem Interimsnamen Otrivin der Firma Ciba, eine Kombination von Histamin und Methylanilin, auf seine Eigenschaft als Kreislaufmittel hin zurklinischen Prüfung und wurde anschließend mit den bereits bewährten Kreislaufmitteln Veritol und Sympatol verglichen.

Nach Angabe der Firma ist Otrivin das Chlorhydrat des Phenylaminomethylimidazolins der Formel:



Die Toxizität der Verbindung wird als etwas geringer als die des Adrenalins angegeben. Zur Verwendung kam eine $1^0/_{00}$ige Lösung.

Da die Vorversuche am Menschen zeigten, daß es sich um eine außerordentlich wirksame Substanz handelt, klinisch ähnlich der des Adrenalins, wurde vorsichtig dosiert und als Anwendungsart die subcutane Verabreichung gewählt. Sämtliche Untersuchungen wurden am liegenden Patienten angestellt. Bei den Versuchspersonen handelte es sich um Rekonvaleszenten, vorwiegend nach Infektionskrankheiten (Pneumonien, Masern, Diphtherie, Mumps, Röteln).

Die Injektionen erfolgten immer an der gleichen Stelle. Der Blutdruck wurde nach genügender Vorbeobachtung in Ruhe alle 5 Minuten mit der Manschettenmethode nach Korotkoff auskultatorisch über der Ellenbeuge gemessen. Die Pulsfrequenz wurde gleichzeitig mit Hilfe eines zweiten Untersuchers durch einfaches Auszählen gewonnen.

Ergebnisse.

a) Otrivin.

Untersucht wurden bei 21 Patienten unter gleichzeitiger Beobachtung der Verträglichkeit das Verhalten von Blutdruck und Puls bei Gaben von $^1/_2$, 1 und 2 mg Otrivin. Später wurde die Untersuchung der zirkulierenden Blutmenge und der Kreislaufgrößen miteinbezogen, um das Bild der Wirkungsweise des Otrivins zu vervollständigen.

Die Verträglichkeit des Otrivins war unterschiedlich. Die Männer klagten mit einer Ausnahme überhaupt nicht über Nebenerscheinungen, während die Frauen zuweilen Klagen vorbrachten. Insgesamt ergab sich folgendes durchschnittliches Bild: Allen Injektionen vorstehend verschiedener Dosierungen war gemeinsam das Auftreten einer Gänsehaut an der Injektionsstelle, die je nach Menge der verabreichten wirksamen Substanz Handtellergröße und das Mehrfache davon erreichten. Die Injektion selbst war einige Stunden schmerzhaft, weswegen stets 2 Teilstriche 2%iges Novokain hinzugefügt wurden. Mit steigender Dosis traten in zunehmendem Maße Kopfschmerzen, Frösteln und Parästhesien auf.

Der Blutdruck steigt bei $^1/_2$ mg Otrivin bereits um 30—40 mm Hg, während er in einzelnen Fällen den Anstieg vermissen ließ. Bei 1 mg und mehr stieg er in jedem Falle an. Bemerkenswert war hierbei die gleichzeitige systolische und diastolische Erhöhung der Werte in ziemlich steilem Anstieg. Der höchste Gipfelwert wurde nach 15—35 Minuten erreicht. Diese Verschiedenheit im Anstieg mag z. T. an dem unterschiedlichen Resorptionsvermögen gelegen haben. Bei 1 mg schwankte der systolische Anstieg zwischen 20—55 mm Hg; bei 2 mg Otrivin zeigten sich enorme systolische Blutdrucksteigerungen in einem Spielraum von 40—80 mm Hg. Jedesmal folgte der diastolische Anstieg entsprechend. Die Blutdruckamplitude zeigte also keine Größenveränderung.

Besonders hervorzuheben ist das lange Verharren der Blutdruckerhöhung. Die Rückkehr zum Anfangswert erfolgte im allgemeinen bei der therapeutischen Dosis von 1 mg nicht vor 2—$2^1/_2$ Stunden, um gewöhnlich nach einer Pause von etwa 30 Minuten noch einmal für kurze Zeit anzusteigen. In vereinzelten Fällen erfolgte der systolische Abfall des Blutdrucks früher, in anderen aber noch später, so daß nach 3 Stunden die Anfangswerte noch nicht wieder erreicht waren.

Eine Sonderstellung nimmt das Verhalten des Pulses ein. Hierbei waren verschiedentlich erhebliche Bradykardien zu sehen, wie sie bei anderen Kreislaufmitteln bisher nicht beobachtet wurden.

Die Dauer der hervorgerufenen Bradykardie ließ eine Gesetzmäßigkeit vermissen. Sie hielt 40 Minuten bis zu mehreren Stunden an.

Ganz extreme Bradykardien traten nach 2 mg Otrivin auf. Hiernach war eine Verminderung der Schlagfolge auf 36, ja sogar auf 28 zu beob-

achten. Dabei bestanden Lufthunger, Angstgefühl in der Herzgegend und die unter den Allgemeinerscheinungen geschilderten Beschwerden. Bei diesen Versuchspersonen war die Bradykardie 3 Tage hindurch zu verfolgen.

Wie die Elektrokardiogramme nach Otrivininjektionen erkennen lassen, handelt es sich um eine vom Sinus ausgehende Verminderung der Schlagfolge. Eine Beeinflussung der Reizleitung war nicht festzustellen.

b) Veritol und Sympatol.

Da zahlenmäßige Ergebnisse von Untersuchungen über die subcutane Wirkungsweise von Sympatol und Veritol nicht vorliegen, wurden diese in gleicher Weise wie beim Otrivin durchgeführt, um so eine Vergleichsmöglichkeit zu besitzen und die Vorbedingungen für die später zu besprechende Kreislaufanalyse nach Wezler und Böger zu schaffen. Die an den gleichen Patienten erzielten Ergebnisse sind kurz folgende:

Der Blutdruck stieg nach 60 mg Sympatol = 1 Ampulle s. c. durchschnittlich um 6,5 mm Hg an, also sehr wenig und war nach 23 Minuten wieder zum Ausgangswert zurückgekehrt (10 Versuchspersonen). 180 mg riefen einen durchschnittlichen Anstieg von 20 mm Hg hervor. Die Schwankungsbreite war bei den einzelnen Patienten erheblich. Im allgemeinen wurde der Gipfelpunkt nach 10–20 Minuten erreicht. Der Abfall der Blutdruckkurve zum Ausgangswert erfolgte im Durchschnitt nach 60 Minuten.

Vom Veritol wurden 20 mg = 1 Ampulle gegeben (7 Versuchspersonen). Diese Menge rief innerhalb der ersten 10–20 Minuten einen ziemlich steilen Anstieg hervor, der im Mittel 30 mm Hg betrug. Bei diesem Präparat war die Streuung der Werte, was sowohl den systolischen Blutdruck als auch die Länge der Wirkung anbelangt, bei weitem nicht so ausgesprochen wie beim Sympatol. Der Abfall zum Ruheblutdruck trat durchschnittlich erst nach 80 Minuten ein. Die Wirkung auf den Blutdruck war also anhaltender als die des Sympatols.

Die Pulsfrequenz wurde durch Sympatol wenig oder gar nicht beeinflußt. Nach 60 mg zeigten von den 10 Versuchspersonen drei eine mäßige Verminderung um 10–16 Schläge in der Minute, zwei einen geringen Anstieg um 8–16, die übrigen blieben unbeeinflußt. Die Änderungen in der Frequenz hielten 60–70 Minuten an.

Nach 180 mg Sympatol blieb die Pulsfrequenz vollständig unbeeinflußt.

Bei Veritol blieb die Schlagfolge gleich, oder sie verlangsamte sich um ein geringes. Eine Pulsvermehrung dagegen trat nicht auf.

Besprechung der Blutdruck- und Pulsfrequenzveränderungen.

Zur Beurteilung von Otrivin, Sympatol und Veritol bezüglich ihrer Wirkung auf Blutdruck und Pulsfrequenz läßt sich folgendes sagen:

1. Das Otrivin ist eine neuartige Substanz, die in ihrer Wirkung auf den Blutdruck bei gleichwirksamer Dosierung dem Adrenalinabkömmling Veritol ähnelt, aber von längerer Wirkungsdauer ist. Diese beträgt etwa das $2^1/_2$fache des Veritols. Die blutdrucksteigernde Wirkung des Sympatols ist relativ gering.

2. Das zweite Charakteristikum des Otrivins ist seine bei hohen Dosen viele Stunden anhaltende Bradykardie.

Dieser regelmäßig auftretenden Otrivinbradykardie entspricht eine minimale, nicht immer zutage tretende Pulsverminderung nach Veritol, während bei Sympatol durchschnittlich keine Pulsveränderung eintritt.

Die Otrivinbradykardie ist wohl durch die Selbststeuerung des Kreislaufs über den Carotissinus verursacht.

Das Verhalten des Blutzuckers nach Otrivin.

In den 3 untersuchten Fällen zeigt sich keine bedeutsame Veränderung der Blutzuckerwerte im Vergleich zu denen vor der Injektion. Die wenigen Untersuchungen dürften wegen ihrer Einheitlichkeit die Annahme rechtfertigen, daß die nach Adrenalin beobachtete Zuckerausschüttung im Blute nach Otrivin nicht eintritt.

Bei Veritol wurde ebenfalls keine Blutzuckersteigerung gefunden (Rein).

Das Verhalten der zirkulierenden Blutmenge nach Otrivin.

Um das Verhalten der zirkulierenden Blutmenge — dieser für den Gefäßkollaps ausschlaggebenden Zirkulationsgröße — unter der Einwirkung von Otrivin kennenzulernen, wurde die Blutmenge nach L. Heilmeyer mit der Kongorotmethode unter Verwendung des Pulfrichschen Stufenphotometers bestimmt.

Es fanden sich bei den 3 Versuchspersonen 30—40 Minuten nach der subcutanen Otrivininjektion im Durchschnitt ein Anstieg um 25% der zirkulierenden Blutmenge.

V.-P.	Zirkulierende Blutmenge		Steigerung in %
	vorher	nach Otrivin	
1	3,31	4,51	36
2	4,41	5,11	16
3	4,31	5,31	23

Im Vergleich hierzu fand Oberdisse für Adrenalin einen durchschnittlichen Anstieg um 29%; für Sympatol an 24 Kreislaufgesunden

einen solchen von 10—50%. Beim postoperativen Kollaps fand derselbe Beobachter nach Sympatol eine Zunahme von über 50%.

Bei Veritol fand Grosse-Brockhoff mit der CO-Methode eine Steigerung der zirkulierenden Erythrocytenmenge bis zu 8%.

Die Steigerung der zirkulierenden Blutmenge nach Otrivin steht also der des Adrenalins sehr nahe.

Diese Zunahme der zirkulierenden Blutmenge nach Otrivin ist sehr auffällig, da es stets, wie noch gezeigt wird, zu einer erheblichen Minutenvolumenverminderung kommt. Bei den erwähnten Kreislaufmitteln geht die Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge mit einer Steigerung des Minutenvolumens einher. Physiologische Versuche haben ergeben, daß durch die Auspressung von Blutspeichern nicht nur die zirkulierende Blutmenge, sondern durch venöses Mehrangebot auch das Schlagvolumen vergrößert wird. Man möchte danach denken, daß die Steigerung der zirkulierenden Blutmenge stets auch eine Schlagvolumensteigerung zur Folge haben müßte. Beim Otrivin ist das aber nicht der Fall. Vielleicht hindert die gleiche zentrale Regulation, die die Bradykardie verursacht und starke periphere Konstriktion mit der Widerstandserhöhung die Vergrößerung des Schlagvolumens.

B. Kreislaufanalyse.

Der Blutdruck stellt eine so komplexe Größe dar, daß sich aus seiner Änderung allein kaum Rückschlüsse auf etwaige Änderungen der ihn bestimmenden Komponenten und damit auf die wirklichen mechanischen und regulatorischen Vorgänge innerhalb des Kreislaufes ziehen lassen. Ebensowenig genügt die zusätzliche herangezogene Bestimmung der Pulsfrequenz zur Beurteilung der Wirkungsweise eines Kreislaufmittels. Eine derartige Prüfung bleibt unzulänglich, denn eine Blutdrucksteigerung kann ebenso durch eine Vergrößerung des Schlagvolumens wie durch eine Erhöhung des peripheren Widerstandes oder andererseits durch Veränderung der Windkesselelastizität verursacht sein. Die Blutdruckmessung allein bringt uns also in dem Verständnis eines Kreislaufmittels nicht weiter.

Eine umfassende Analyse ist in verhältnismäßig einfacher Weise neuerdings durch die physikalischen Untersuchungsmethoden nach Wezler möglich geworden, die alle genannten Kreislauffaktoren gleichzeitig zu bestimmen gestattet. Den älteren gasanalytischen Untersuchungsmethoden (Bestimmung des Minutenvolumens nach Grollmann und Kroetz usw.) haftete u. a. der Übelstand an, daß die Versuchsperson durch eine komplizierte und unphysiologische Atemtechnik mitarbeiten muß. Bei der Methode nach Wezler ist ein völlig passives Verhalten der Versuchsperson während der Untersuchung möglich, die Untersuchungen lassen sich oft und kurz hintereinander ausführen und die Methode ist nach den ver-

gleichenden Untersuchungen von Wezler und Böger außerordentlich genau. Außerdem ist die Anlegung von 2 oder 3 Membranen über die oberflächennahen Arterien eine so geringe Belästigung des Patienten, daß sie als Störungs- oder Reizmoment nicht ins Gewicht fällt.

Methode.

Das Prinzip der Methodik beruht bekanntlich auf der Auswertung von nach O. Frank registrierten Pulskurven eines zentralen und eines peripheren Pulses (A. carotis, A. femoralis). Ermittelt werden dadurch: die Pulswellengeschwindigkeit, die Pulsdauer, die Eigenschwingungszeit, die Systolendauer. Gleichzeitig wird der systolische und der diastolische Druck mit der Manschette (nach Korotkoff) gemessen. Die so gewonnenen Werte erlauben entsprechend der Windkesseltheorie von O. Frank und ihrer Fortführung durch Wezler eine Berechnung nicht allein des Schlag- und Minutenvolumens, sondern auch des Widerstandes der Kreislaufperipherie sowie der Windkesselelastitizät. Auf eine Ableitung dieser Berechnungen kann hier naturgemäß nicht eingegangen werden. Bezüglich der Methode und der benutzten Formeln verweisen wir auf Wezler und Böger.

In der Hälfte der Fälle war die Grundschwingung (T) des arteriellen Systems nicht genau genug meßbar, weswegen die Berechnung nach der Methode von Broemser und Ranke erfolgte:

$$V_s = 0{,}48 \frac{\Delta p \cdot Q \cdot S \cdot \tau}{a \cdot \varrho \cdot (\tau - S)}.$$

Stichproben im Vergleich dieser beiden Methoden zeigten recht übereinstimmende Ergebnisse (wie dies auch von Wezler und Mitarbeitern betont wird).

Unter der Wirkung von Otrivin, Veritol und Sympatol wurden an 10 Patienten derartige Kreislaufanalysen vergleichend ausgeführt nach der Methode von Wezler und Böger unter stets gleichbleibenden Bedingungen, nachmittags 2—3 Stunden nach dem Essen. Die Versuchspersonen befanden sich in horizontaler Lage. Bei angelegten Instrumenten wurde mehrmals der Blutdruck mit der Manschettenmethode nach Korotkoff bestimmt. Ferner wurden 2—3 Pulsregistrierungen in Ruhe vorgenommen. Nachdem auf diese Weise etwa 30 Minuten verstrichen waren, wurden entweder 1,5 mg Otrivin oder 20 mg Veritol oder 180 mg Sympatol subcutan in den rechten Oberschenkel injiziert. Die Registrierungen nach erfolgter Injektion waren in ihrer Zeitfolge den im ersten Teil der Arbeit niedergelegten Erfahrungen über die Wirkungsweise der verschiedenen Präparate angepaßt. Im einzelnen Versuch erstreckten sich die Analysen über eine Zeitdauer von 80—180 Minuten.

Ergebnisse und Besprechungen.

a) Otrivin.

Bei subcutaner Injektion von 1,5 mg Otrivin wurde folgendes gefunden (siehe Abb. 1, 2 und 3):

1. Wie schon in den anderen Blutdruckuntersuchungen gefunden, steigt sowohl der systolische (P_s) wie der diastolische (P_d) Blutdruck in ungefähr gleichem Ausmaße an. Das Blutdruckmaximum liegt bei 30—40 Minuten nach der Injektion. Auffällig ist die besonders lange blutdrucksteigernde Wirkung, die in den meisten Fällen nach 100 Minuten noch nicht wieder abgeklungen ist und in einem Versuch bis zu 175 Minuten beobachtet wurde.

2. In den Versuchen kommt es jedesmal zu einem z. T. erheblichen Absinken des Minutenvolumens (V_m). Dies ist bedingt teils durch eine Verkleinerung des Schlagvolumens (V_s) zusammen mit Erniedrigung der Pulsfrequenz, teils durch die Pulsfrequenz allein, ohne Verkleinerung des Schlagvolumens (Versuch 29). Die Verringerung des Minutenvolumens ist sehr erheblich. Das Minutenvolumen sinkt (Abb. 1, 2 und 3)

im Versuch 25* von 4,8 Liter auf 3,1 Liter (Absinken um 35%),
im Versuch 27 von 6,2 Liter auf 3,0 Liter (Absinken um 52%),
im Versuch 29 von 5,8 Liter auf 3,8 Liter (Absinken um 35%).

Das Minimum der Erniedrigung liegt zwischen der 20. und 65. Minute, stimmt also nicht genau mit dem Blutdruckmaximum überein. Eine erhebliche Minutenvolumenverkleinerung bleibt ebenso wie die Blutdrucksteigerung während der ganzen Dauer der Beobachtung (in Versuch 29 bis zur 175. Minute) erhalten.

3. Die Steigerung des Blutdrucks, trotz sinkenden Minutenvolumens, ist im wesentlichen bedingt durch eine Steigerung des peripheren Widerstandes (W). Diese Steigerung ist in den 3 Versuchen erheblich. Sie vermehrt sich im

Versuch 25 von 1380 auf 3300 Dyn · sec/cm^5 (+ 139%),
Versuch 27 von 1200 auf 2700 Dyn · sec/cm^5 (+ 125%),
Versuch 29 von 1500 auf 2725 Dyn · sec/cm^5 (+ 82%).

Das Maximum dieser Steigerung fällt zeitlich mit dem Minimum des Minutenvolumens zusammen.

4. Der elastische Widerstand (E') steigt in den einzelnen Versuchen nur wenig an. Berücksichtigt man die z. T. erheblichen Blutdrucksteigerungen, so ist die Vergrößerung des elastischen Widerstandes wohl

---

* Anm.: Sämtliche 10 Versuche über diese Fragestellung sind hier publiziert. Die hohen Versuchsnummern kommen durch fortlaufende Nummerierung im Verein mit anderen Arbeiten zustande.

nicht allein auf die Blutdrucksteigerung zurückzuführen, also nur passiv ausgelöst. Es müssen aktive Änderungen des Gefäßtonus einem zu starken

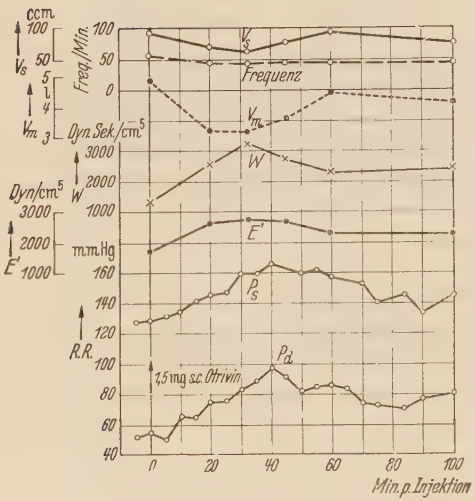


Abb. 1. (Versuch 25) Otrivin.

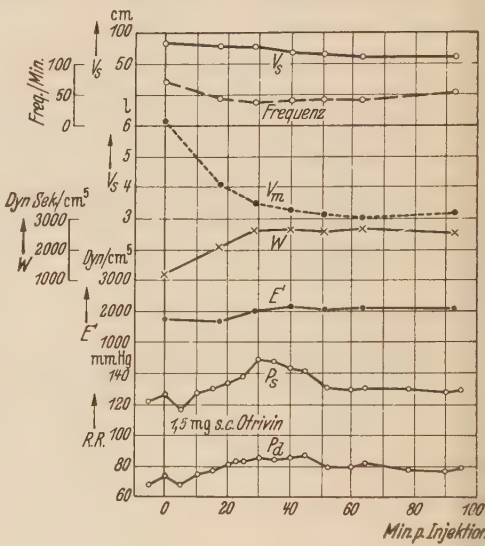


Abb. 2. (Versuch 27) Otrivin.

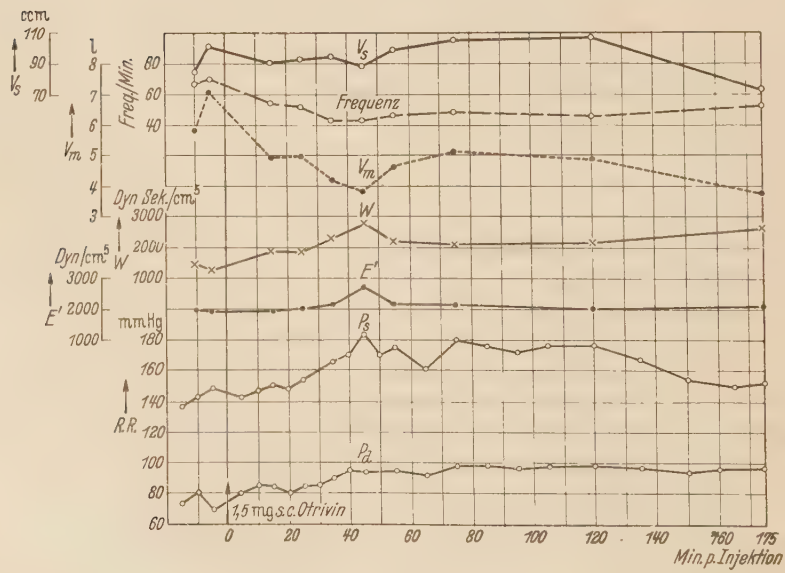


Abb. 3 (Versuch 29) Otrivin.

Beschriftung zu Abb. 1—10. Von oben nach unten: Schlagvolumen (V_s), Pulsfrequenz (Fr), Minutenvolumen (V_m) (in Liter/Min.), peripherer Widerstand (W), elastischer Widerstand (E'), systolischer Druck (P_s), diastolischer Druck (P_d).

Ansteigen des Elastizitätsmoduls entgegenwirken (vgl. den entsprechenden Abschnitt bei Veritol).

5. Die Pulsfrequenz (*Fr*) sank in den einzelnen Versuchen verschieden stark (von 54 auf 44,8, von 71,8 auf 42,3 und von 70 auf 43,7) ab. Die Bradykardie ist also in jedem Falle sehr erheblich gewesen.

6. Das Schlagvolumen (V_s) sank in 2 Fällen

im Versuch 25 von 89 ccm auf 67 ccm,
im Versuch 27 von 86 ccm auf 62 ccm,

während es in dem 3. Falle

im Versuch 29 von 85 ccm auf 108 ccm

anstieg. Wie besprochen, sank auch in diesem letzten Falle ebenso wie in den anderen durch Bradykardie das Minutenvolumen ab.

Zusammenfassend kann man also sagen:

In allen Fällen kommt es bei subcutaner Verabreichung von 1,5 mg Otrivin zu einer langdauernden Erniedrigung des Minutenvolumens mit Bradykardie, die in zwei Fällen von dreien mit Erniedrigung des Schlagvolumens einhergeht. Der Blutdruck wird also durch die Kreislaufwiderstände gesteigert, und zwar kommt es im wesentlichen zu einer Steigerung des peripheren Widerstandes um 80—140% über 1—3 Stunden! Es handelt sich also, wenn dieser Ausdruck hier angebracht ist, nach der Nomenklatur von Wezler um einen ausgesprochenen Widerstandshochdruck.

Nach diesem Ergebnis wird man nicht zögern, den Angriffspunkt des Präparats hauptsächlich in die Peripherie zu verlegen. Die Erhöhung der peripheren Widerstände ist in allen Fällen von einer Erniedrigung des Minutenvolumens begleitet. Eine solche Wirkung ist nach den Untersuchungen von Böger, Deppe und Wezler an Pitressin pharmakodynamisch am ehesten mit derjenigen dieser Substanz zu vergleichen, bei der es jedoch nicht zu einer so starken Bradykardie kommt.

Die außerordentlich lange Wirkungsdauer des Otrivins bestätigte sich auch bei diesen Versuchen. Eine zentralerregende Wirkung läßt sich nicht ersehen. Die starke Bradykardie beruht, wie besprochen, wohl auf einer Vaguserregung via Blutdrucksteigerung (Carotissinus). Mittel mit zentralerregender Wirkung, wie das Coffein, das Strychnin und auch das Adrenalin zeigten nach den Versuchen von Wezler und Böger stets erhebliche Steigerung des Schlag- und Minutenvolumens, die bei diesem Präparat vermißt werden.

Es kann also nach dieser Analyse gesagt werden, es handelt sich um ein Präparat mit rein peripherer Kreislaufwirkung, erheblicher Steigerung des peripheren Widerstandes und Absinken des Minutenvolumens. Bemerkenswert ist außerdem seine

langanhaltende Wirkungsdauer und die (durch Atropin hemmbare) vagotonische Bradykardie. Über die direkte Herzwirkung und die Herzarbeit wird weiter unten abgehandelt.

Zum Vergleich der Wirkungsweise wurden die bekannten Kreislaufpräparate Veritol und Sympatol in genau der gleichen Weise untersucht (subcutane Injektionen). Eine physikalische Kreislaufanalyse wurde bei diesen beiden Mitteln schon von Böger, Deppe und Wezler vorgenommen, die jedoch intravenös injizierten, wodurch es zu einem ganz anderen Reaktionsablauf durch die massive und plötzliche Wirkung der Mittel im Wechselspiel mit den Gegenregulationen (Entlastungsreflex) des Körpers kommt.

Die Autoren konnten so einen einphasischen und mehrphasischen Reaktionsablauf usw. feststellen. Eine Prüfung dieser beiden Präparate bei subcutaner Anwendung ergab andere Resultate, die einen besseren Vergleich mit der ebenfalls subcutan hervorgerufenen Wirkung des Otrivins erlauben.

b) Veritol.

Bei den 4 Veritolversuchen wurde eine Dosierung verwendet, die in Vorversuchen etwa die gleiche blutdrucksteigernde Wirkung wie Otrivin aufwies (20 mg = 1 Ampulle) (Abb. 4, 5, 6, 7; Versuch 39, 38, 37, 31).

1. Ähnlich wie beim Otrivin fand sich eine Steigerung auch des diastolischen Blutdrucks. Im allgemeinen jedoch nahm die Amplitude, im Gegensatz zum Otrivin, zu. Das Maximum der Blutdrucksteigerung lag in der 15.—30. Minute, also etwas früher als beim Otrivin. Übereinstimmend damit war auch die Blutdruckwirkung früher abgeklungen als beim Otrivin, nämlich nach 60—90 Minuten.

2. Das Minutenvolumen stieg im Gegensatz zum Otrivin meist an. In 3 Versuchen kam es zu einem vorübergehenden Anstieg, in 1 Versuch allerdings zu einem Absinken. Im einzelnen veränderte sich das Minutenvolumen (Abb. 4—7)

in Versuch 39 von 4,4 Liter auf 5,3 Liter (Ansteigen um 20%),
in Versuch 38 von 6,0 Liter auf 7,3 Liter (Ansteigen um 22%),
in Versuch 37 von 5,3 Liter auf 7,1 Liter (Ansteigen um 34%),
in Versuch 31 von 6,9 Liter auf 4,9 Liter (Absinken um 29%).

Zum Versuch 31 ist zu sagen, daß die Schlag- und Minutenvolumenwerte schon in den beiden Bestimmungen vor der Injektion stark absanken, so daß die weitere Verkleinerung dieser Werte wahrscheinlich nicht allein auf die Veritolwirkung, sondern auf eine „spontane" Kreislaufänderung (abklingende Erregung?) zurückzuführen ist. Vielleicht aber liegt hier ein Beispiel für die völlig andere Reaktionsweise bei anderer Ausgangslage des Organismus vor, wie dies in letzter Zeit von Wezler betont wurde.

Die Steigerung des Minutenvolumens ist im wesentlichen auf eine erhebliche Steigerung des Schlagvolumens zurückzuführen, so daß es trotz

einer geringen Frequenzabnahme zu einer Minutenvolumensteigerung kommt.

3. Im Gegensatz zum Otrivin kommt es meistens zuerst zu einem Absinken des peripheren Widerstandes und erst später nach 45—60 Minuten

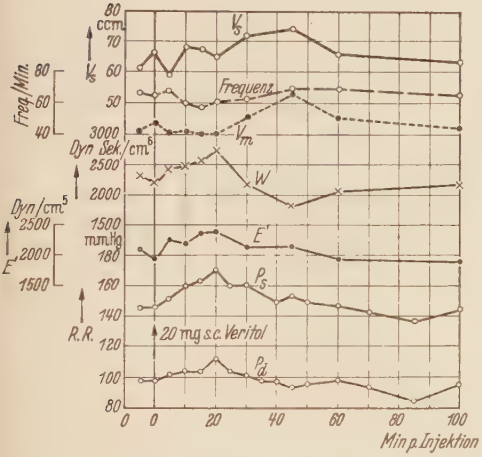


Abb. 4. (Versuch 39) Veritol.

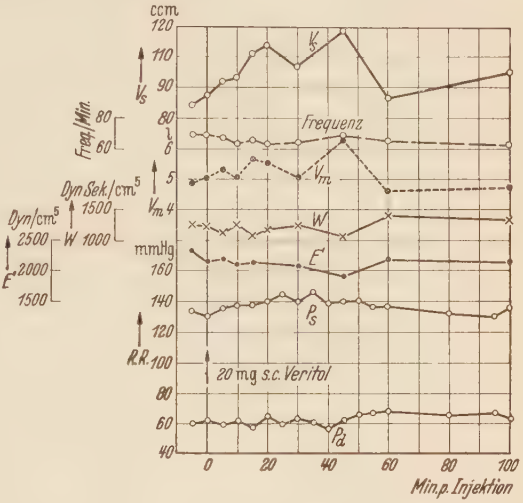


Abb. 5. (Versuch 38) Veritol.

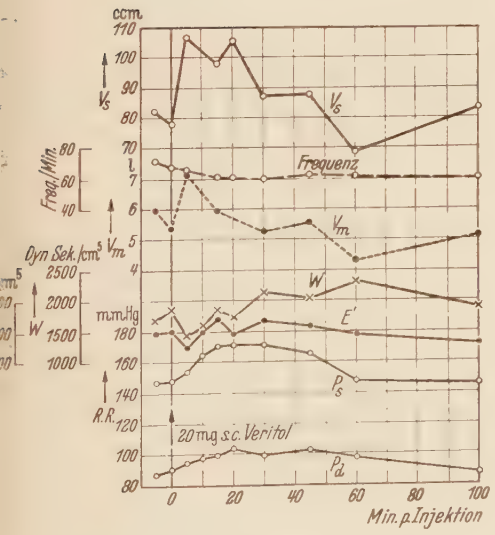


Abb. 6. (Versuch 37) Veritol.

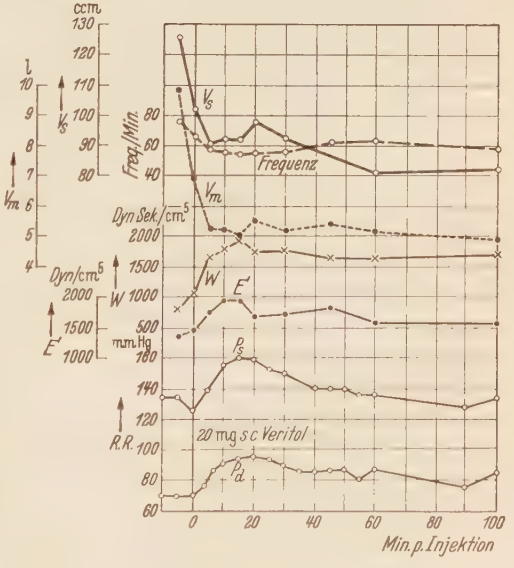


Abb. 7. (Versuch 31) Veritol.

zu einer Widerstandsvermehrung mit nun absinkendem Minutenvolumen (nur in dem Versuch mit dem starken Absinken des Minutenvolumens

steigt der Widerstand von Anfang an). Im einzelnen sinkt und steigt der periphere Widerstand auf folgende Minimal- und Maximalwerte:

Versuch 39 von 2310 auf 1820 auf 2730 (− 21%; + 18%),
Versuch 38 von 1252 auf 1054 auf 1395 (− 17%; + 11%),
Versuch 37 von 1842 auf 1410 auf 2330 (− 23%; + 26%),
Versuch 31 von 1092 auf 1940 (— + 78%).

Es kommt also hier interessanterweise zu einem Zweiphasenverlauf des peripheren Widerstandes: Einmal ist der periphere Widerstand eher niedrig und die Blutdrucksteigerung wird offenbar durch das erhöhte Schlagvolumen bewirkt. In der anderen Phase nach etwa 45 Minuten, bei der die Blutdrucksteigerung im wesentlichen schon wieder abgeklungen ist, kommt es zu einer Senkung des Schlagvolumens und zu einer geringen Erhöhung des peripheren Widerstandes. Im Versuch 39 ist der Phasenverlauf umgekehrt, im Versuch 31 kommt es nur zu einer Widerstandssteigerung bei abnormen Ausgangswerten, wie besprochen. Man möchte aus dieser Analyse schließen, daß die Blutdrucksteigerung beim Veritol teils durch das Schlagvolumen hervorgerufen wird und teils auch eine Widerstandserhöhung mitwirkt.

Im Vergleich dazu fanden Böger und Deppe und Wezler bei intravenöser Verabfolgung von 10 mg Veritol in den veröffentlichten Kurven ein Absinken von Schlag- und Minutenvolumen und eine erhebliche Steigerung des peripheren Widerstandes. (Nach persönlicher Mitteilung von Prof. Wezler nur in einem Teil der untersuchten Fälle.) Meyer und Spiegelhoff fanden bei einem einzelnen Gesunden mit der gleichen Methode eine Schlag- und Minutenvolumensteigerung mit geringer Zunahme des peripheren Widerstandes. Es ist zu betonen, daß in beiden Arbeiten Veritol intravenös injiziert wurde, woraus sich, wie schon erwähnt, wahrscheinlich ganz andere Verhältnisse ergeben. Außerdem waren die Versuchspersonen Gesunde. Übereinstimmend mit unseren Versuchen fand Rein bei seinen grundlegenden Arbeiten über den Kreislaufkollaps und die Veritolwirkung eine „langdauernde Erhöhung des Herzminutenvolumens ohne wesentliche Erhöhung des peripheren Widerstandes". Rein schließt daraus „die Drucksteigerung ist also nur durch eine tatsächliche Auffüllung des Kreislaufes mit Blut aus dem venösen Kreislaufanteil und Blutmobilisierung aus den Depotorganen erklärbar". Wieweit in eigenen Versuchen eine primär leistungsfördernde Wirkung auf das Herz, wie sie Eichler und Schaumann fanden und sie nach Gollwitzer-Meier ganz allgemein den sympathicotropen Mitteln zukommt (positiv inotrope Wirkung), oder nur vermehrter Blutzuschub der Schlagvolumensteigerung zugrunde liegt, wird schwer zu entscheiden sein. Wir verweisen auf den Abschnitt über die direkte Herzwirkung weiter unten. Jedenfalls werden die tierexperimentellen Versuche Reins bei subcutaner Injektion an Rekonvaleszenten im wesentlichen bestätigt.

4. Der elastische Widerstand zeigte ein wechselndes Verhalten. Es kam teils zu einem geringen Anstieg, teils zu einem geringen Abfall der Ausgangswerte. Eine Analyse dieser Veränderungen soll an dieser Stelle unterbleiben, da eine Messung der beiden maßgebenden Elemente des Windkessels als Dämpfungssystem, nämlich seine Kapazität und seine Elastizität sich nicht jedesmal durchführen ließen. Es ist sehr interessant, daß der wirksame Elastizitätsmodul E' in einem Falle trotz Blutdrucksteigerung absank, was wohl nur durch Verkleinerung des Volumenelastizitätsmoduls zu erklären ist. D. h. die Federung des Windkesselsystems wird trotz erhöhten Druckes nicht härter, sondern weicher, wahrscheinlich durch tonische Änderung der Gefäßmuskulatur (also ähnlich wie beim Otrivin). (Böger, Deppe und Wezler fanden eine erhebliche Steigerung des E', ebenso wie Meyer und Spiegelhoff.)

5. Die Pulsfrequenz zeigte jedesmal ein geringes Absinken, was aber nicht so stark wie beim Otrivin war. Beim Menschen wurden von D. Schneider, H. Schneider und Kopp erhebliche, z. T. unangenehme Steigerungen von Blutdruck und Puls gesehen. Im Gegensatz hierzu fanden F. Meyer und W. Spiegelhoff, ferner Grosse-Brockhoff und F. Kaldenberg Pulsverlangsamung bei Blutdruckerhöhung. Dieser Beobachtung können wir uns anschließen.

6. Das Schlagvolumen wurde schon unter 2. besprochen. Es fanden sich dreimal ganz erhebliche Vergrößerungen des Schlagvolumens, einmal ein Absinken:

Versuch 39 von 66,4 auf 74,5 ccm (12%),
Versuch 38 von 87,2 auf 109 ccm (25%),
Versuch 37 von 78,2 auf 107 ccm (37%),
Versuch 31 von 102 auf 82,7 ccm (— 19%).

Zusammenfassend läßt sich also sagen:

Bei Veritol kommt es bei subcutaner Verabreichung meist in der ersten Stunde zu einer erheblichen Steigerung des Schlag- und Minutenvolumens, bei geringem Absinken oder Gleichbleiben des peripheren Widerstandes. Der wirksame Elastizitätskoeffizient E' des arteriellen Systems verhielt sich wechselnd. Es handelt sich also im wesentlichen um eine Blutdrucksteigerung, die durch Steigerung des Schlagvolumens hervorgerufen ist. In der zweiten Phase der Veritolwirkung (nach etwa 45 Minuten) kommt es nach Abklingen der Blutdruckwirkung meist zu einer Widerstandsvermehrung mit Absinken des Schlag- und Minutenvolumens, aber nicht wesentlich unter die Norm.

Nach diesem Ergebnis wird man den Angriffspunkt des Präparats im Gegensatz zum Otrivin nicht so sehr in die Peripherie verlegen, sondern, wie dies schon Rein tierexperimentell nachgewiesen hat, in erster Linie in einer Förderung des venösen Rückstroms und in einer direkten intropen Wirkung auf das Herz sehen. Eine später zu beobachtende

Steigerung des peripheren Widerstandes führt nie zu einer so erheblichen Schlag- und Minutenvolumenerniedrigung wie beim Otrivin. (Von Versuch 31 abgesehen, der aus den besprochenen Gründen ausfällt.)

c) Sympatol.

Das Sympatol wurde ebenfalls in einer Dosierung verwandt, die in den Vorversuchen etwa die gleiche blutdrucksteigernde Wirkung aufwies wie die bei den anderen Präparate (180 mg = 3 Ampullen). Es fand sich:

1. Eine Steigerung im wesentlichen nur des systolischen Blutdrucks. Es braucht hier auf die in einer sehr großen Literatur niedergelegten Einzelheiten über die Blutdruckwirkung des Sympatols seit den klassischen Arbeiten aus der P. Trendelenburgschen Schule nicht eingegangen zu werden. Es soll nur erwähnt werden, daß das Maximum der Blutdrucksteigerung schon nach 10—20 Minuten erreicht ist und das bei unserer Dosierung die Blutdruckwirkung schon nach 30—40 Minuten abgeklungen war. Also wesentlich früher als beim Veritol und Otrivin.

2. Beim Sympatol wurden die stärksten Minuten- und Schlagvolumensteigerungen der drei Mittel beobachtet, obwohl die relativ geringste Blutdrucksteigerung zustande kam. Die absolute und prozentuale Minutenvolumensteigerung war wie folgt (Abb. 8, 9, 10; Versuch 34, 35, 36):

Versuch 36 von 4,52 Liter auf 5,68 Liter (Anstieg um 26%),
Versuch 35 von 5,00 Liter auf 8,26 Liter (Anstieg um 65,3%),
Versuch 34 von 4,1 Liter auf 6,1 Liter (Anstieg um 49,0%).

Die Steigerung des Minutenvolumens ist bedingt durch eine prozentual noch stärkere Steigerung des Schlagvolumens, da die Schlagfrequenz im allgemeinen etwas abnahm.

3. In allen 3 Fällen kam es zu einem Absinken des peripheren Widerstandes, der erst nach etwa 50 Minuten zur Norm zurückkehrte und dann ähnlich wie beim Veritol über den Ausgangswert anstieg. Die Abnahme des peripheren Widerstandes betrug im einzelnen im

Versuch 36 von 1760 auf 1500 (Abfall um 15%),
Versuch 35 von 1810 auf 1050 (Abfall um 42%),
Versuch 34 von 2050 auf 1440 (Abfall um 30%).

Die Blutdrucksteigerung wird also beim Sympatol mehr noch als beim Veritol durch eine Schlagvolumensteigerung hervorgerufen. Die Wirkungsdauer der Schlagvolumensteigerung ist bei der gewählten Dosierung etwa gleich lang.

4. Der elastische Widerstand zeigte ähnlich wie beim Veritol ein wechselndes Verhalten. Im allgemeinen fand keine wesentliche Änderung des Ausgangswertes statt. Im Versuch 34 jedoch kam es zu einem stärkeren Abfall des E' von der 25. Minute ab, der nach 80 Minuten weit unter dem Ausgangswert lag.

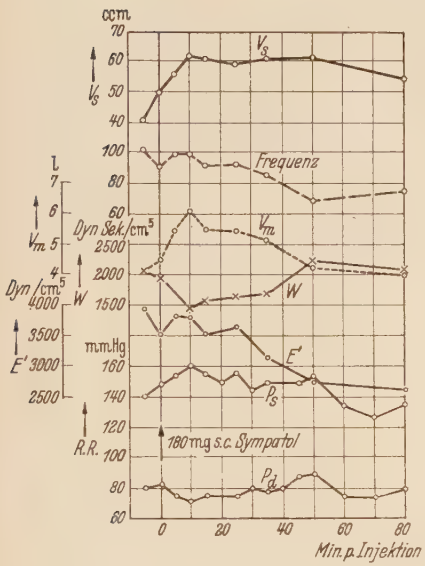


Abb. 8. (Versuch 34) Sympatol.

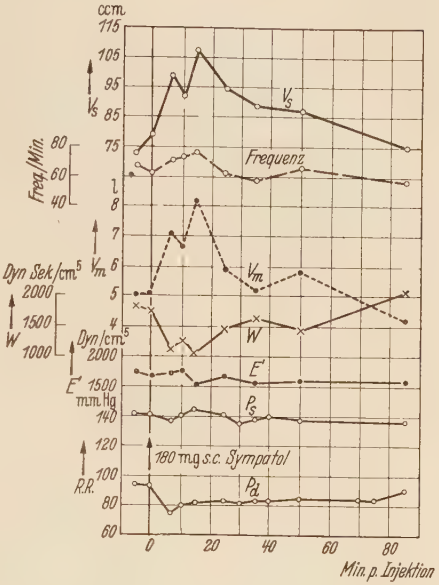


Abb. 9. (Versuch 35) Sympatol.

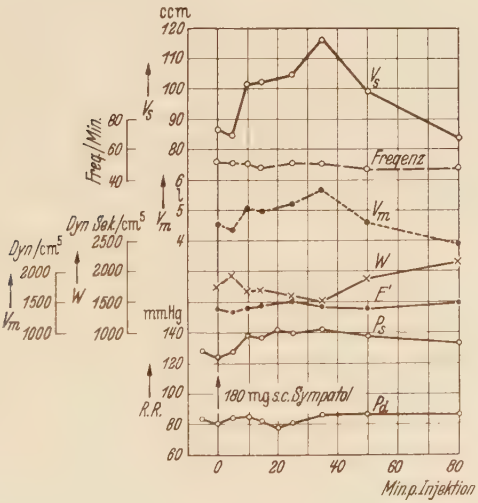


Abb. 10. (Versuch 36) Sympatol.

5. Die Pulsfrequenz sank in allen drei Versuchen um ein Geringes ab.

6. Die schon erwähnte Schlagvolumensteigerung verhielt sich im einzelnen wie folgt:

Versuch 36 von 85,8 ccm auf 116,0 ccm (+ 34 %),
Versuch 35 von 79,0 ccm auf 108,0 ccm (+ 37 %),
Versuch 34 von 49,5 ccm auf 61,8 ccm (+ 25 %).

Zusammenfassend läßt sich sagen:

Das Sympatol wirkt ähnlich wie das Veritol hauptsächlich auf das Schlag- und Minutenvolumen, doch ist seine Wirkung erheblich stärker. Die Schlagvolumensteigerung geht mit Erniedrigung des peripheren Widerstandes einher. Es erhebt sich die gleiche Frage wie beim Veritol, ob nämlich diese Wirkung durch venösen Rückfluß oder durch unmittelbare Wirkung auf das Herz hervorgerufen wird. Eine echte Blutdepotentleerung und eine direkte Herzwirkung mit Coronargefäßerweiterung ist beim Sympatol von pharmakologischer Seite nachgewiesen (Trendelenburg u. a.).

Unmittelbare Wirkung auf das Herz.

Von den „Sympathicomimetica" ist bekannt, daß sie direkt auf den Herzmuskel wirken. Sowohl vom Veritol wie vom Sympatol ist eine direkt positiv inotrope Wirkung auf den Herzmuskel im Tierversuch erwiesen (Gollwitzer-Meier und Kroetz, Trendelenburg usw.). Da, wie besprochen, in unserer Versuchsanordnung eine Wirkung der geprüften Mittel auf das Herz nur indirekt aus der Minutenvolumensteigerung zu erschließen war, untersuchten wir noch zusätzlich das Verhalten der Systolendauer, die bekanntlich bei Sympathicuseinwirkung verkürzt wird, ferner die Herzschlagarbeit (As) und die Herzleistung (L).

Es ist zu bemerken, daß wir aus der zentralen Pulskurve durch Ausmessung bis zur Incisur nur die Austreibungszeit (S) feststellen können. Einen ungefähren Anhalt für die Veränderung der Systolendauer wird aber auch diese Größe geben. Als Maßstab für das „normale" Verhältnis von Systolendauer zu Schlagintervall benutzten wir die Formel von Hegglin und Holzmann,

$$\text{Systolendauer} = 0{,}39 \sqrt{\text{Schlagintervall}},$$

die also die Soll-Systolendauer angibt.

Zur Beurteilung der Veränderungen der Systolendauer im Verhältnis zu der Soll-Systolendauer bildeten wir den Quotienten:

$$\frac{\text{gefundene Systolendauer}}{\text{Soll-Systolendauer}} = S/Soll\text{-}S,$$

also die relative Systolendauer (bzw. Austreibungszeit). In Tabelle 1 sind die Werte für sämtliche Versuche zusammengestellt.

Aus ihnen geht hervor: Alle 3 Mittel wirken auf die Länge der Austreibungszeit, also direkt auf das Herz ein. Beim Otrivin wird die relative Austreibungszeit durchschnittlich um 15% verkürzt, beim Sympatol und Veritol nur um 5—10%. Dies steht in einem eigentümlichen Widerspruch zu der offenbar stärkeren Herzwirkung der beiden letzten Mittel, beurteilt an der Steigerung des Minutenvolumens. Die starke Vagus-

Tabelle 1. Absolute und relative Austreibungszeit.

Otrivin						Veritol								Sympatol					
Versuch 25		Versuch 27		Versuch 29		Versuch 37		Versuch 31		Versuch 38		Versuch 39		Versuch 34		Versuch 35		Versuch 36	
S	*S/Soll-S*	*S*	*S/Soll-S*	*S*	*S/Soll-S*	*S*	*S/Soll-S*	*S*	*S/Soll-S*	*S*	*S/Soll-S*	*S*	*S/Soll-S*	*S*	*S/Soll-S*	*S*	*S/Soll-S*	*S*	*S/Soll-S*
313	**0,875**	**293**	**0,822**	303	0,826	316	0,885	309	0,901	284	0,785	290	0,787	297	0,988	296	0,812	**352**	**0,845**
324	**0,732**	317	0,730	**308**	**0,855**	**312**	**0,855**	**307**	**0,835**	**302**	**0,830**	**290**	**0,780**	**303**	**0,956**	**303**	**0,800**	348	0,825
337	0,765	330	**0,712**	328	0,799	330	0,885	294	0,746	295	0,808	280	0,765	290	0,955	300	0,838	325	**0,763**
340	0,767	330	0,731	333	0,801	322	0,857	296	0,740	300	0,800	288	0,742	292	0,960	301	0,850	340	0,784
337	0,760	332	0,740	346	0,758	340	0,877	300	**0,737**	292	0,783	292	0,747	299	0,944	310	0,899	**324**	0,783
342	0,775	330	0,762	324	**0,710**	318	0,818	311	0,773	303	0,795	284	**0,738**	295	0,937	317	0,837	344	0,797
		347	0,817	351	0,802	321	0,825	308	0,770	294	**0,772**	284	0,752	302	**0,920**	332	0,845	366	0,826
				353	0,814	332	0,874	307	0,808	301	0,816	277	0,772	345	0,950	302	**0,815**	366	0,832
				357	0,797	307	**0,804**	322	0,847	296	0,785	289	0,794	330	0,945	315	0,782		
				324	0,768	328	0,852	326	0,834	301	0,776	286	0,771						

S = Austreibungszeit (in $^1/_{1000}$ sec), *S/Soll-S* = relative Austreibungszeit.

Tabelle 2. Herzschlagarbeit (*As*) und Herzleistung (*L*).

Otrivin						Veritol								Sympatol					
Versuch 25		Versuch 27		Versuch 29		Versuch 37		Versuch 31		Versuch 38		Versuch 39		Versuch 34		Versuch 35		Versuch 36	
L	*As*	*L*	*As*	*L*	*As*	*L*	*As*	*L*	*As*	*L*	*As*	*L*	*As*	*L*	*As*	*L*	*As*	*L*	*As*
8,92	**9,88**	**13,3**	**11,1**	13,8	12,2	16,1	13,5	21,3	16,5	12,0	10,4	8,0	7,2	9,75	5,8	12,8	11,2	**10,0**	**11,4**
7,55	10,10	9,58	11,8	**16,4**	**14,1**	**14,7**	**12,9**	**14,3**	**12,8**	**12,3**	**10,7**	**8,8**	**7,9**	**11,1**	**7,3**	**12,7**	**12,0**	10,0	11,7
8,82	11,40	8,75	**12,4**	12,4	13,8	19,6	17,8	13,2	13,5	13,1	11,5	8,3	7,3	13,2	8,0	15,9	13,4	12,2	14,5
9,07	12,00	8,02	10,9	11,8	14,2	19,3	17,9	13,8	14,5	12,6	11,7	8,8	8,7	**14,9**	9,1	15,8	13,0	11,7	14,5
9,50	**12,60**	7,40	9,7	11,4	15,6	18,1	17,9	13,8	15,1	13,6	12,4	8,8	8,8	13,4	8,8	**20,1**	**15,8**	12,3	14,8
8,48	11,20	**7,00**	8,6	**11,3**	15,6	**19,7**	**19,6**	**15,2**	**16,1**	14,2	**13,5**	9,2	8,9	13,2	8,6	14,5	13,8	**13,4**	**15,1**
		7,27	8,6	13,4	17,0	16,5	16,5	13,6	14,5	13,0	12,4	9,8	**9,2**	12,5	8,9	12,6	12,9	11,0	14,4
				15,1	18,8	16,7	16,8	13,2	12,6	**15,5**	13,8	**10,5**	8,9	11,0	**9,6**	13,9	12,6	9,3	11,8
				14,3	**18,9**	12,2	11,7	12,4	11,8	12,0	11,3	9,1	7,9	9,4	7,6	10,5	11,2		
				10,0	11,7	14,1	13,7	11,6	11,7	11,9	11,8	8,3	7,5						

$As = Vs \cdot Pm$
= Arbeit pro Herzschlag in erg · 10^6,

$L = \frac{Vm \cdot Pm}{60}$
= Herzleistung pro Sekunde in erg/sec · 10^6.

wirkung beim Otrivin mit erheblicher Bradykardie, der die Austreibungszeit nicht in entsprechendem Maße nachfolgt, erklärt wohl den obigen Befund.

Interessant erschien uns ferner die Auswirkung der Kreislaufumstellung auf die Herzleistung pro sec und die Arbeit pro Herzschlag. Wir berechneten sie ohne Berücksichtigung der Beschleunigungsarbeit aus Mitteldruck und Schlag- bzw. Minutenvolumen. Tabelle 2 zeigt diese beiden Werte bei sämtlichen Versuchen. Aus ihnen ergibt sich:

Änderung der Werte in % im Mittel

bei Veritol:	Herzleistung p. sec	+ 23%,	Arbeit p. Herzschlag	+ 33%
„ Sympatol:	„ „	+ 45%,	„ „	+ 38%
„ Otrivin:	„ „	− 29%,	„ „	+ 28%

Bei rein energetischer Betrachtungsweise ist also die Herzleistung pro Zeiteinheit bei Sympatol und Veritol sehr viel größer als beim Otrivin, wo es sogar zu einer Minderbelastung des Herzens kommt. Es ist also sicher unrichtig, die Belastung des Herzens allein nach der Blutdrucksteigerung zu beurteilen, wozu man als Kliniker leicht geneigt ist. Die große Steigerung des Minutenvolumens führt beim Sympatol und Veritol trotz geringerer Blutdrucksteigerung zu einer größeren Herzleistung als beim Otrivin. Eine andere Frage ist allerdings, ob nicht Drucksteigerung das Herz stärker belastet als Minutenvolumenvermehrung. Dies wird von der Kreislaufphysiologie im allgemeinen angenommen. Eine dritte Frage ist die, ob das Absinken des Schlag- und Minutenvolumens beim Otrivin nicht bereits eine zentrale Gegenregulation gegen eine zu starke Druckerhöhung ist. Dann wäre die Leistungsverminderung als zweckmäßige Regulation zu deuten.

Die Analyse der Druckarbeit pro Herzschlag ergibt: Beim Otrivin steigt die Arbeit pro Herzschlag trotz der Verringerung des Schlagvolumens. Der Arbeitszuwachs wird also allein durch den erhöhten Druck bedingt. Bei Veritol und Sympatol steigt die Arbeit pro Herzschlag noch stärker, was jedoch hauptsächlich durch Schlagvolumensteigerung hervorgerufen wird.

Zusammenfassende Besprechung.

Vergleichen wir unsere drei Kreislaufmittel unter Berücksichtigung gleichblutdruckwirksamer Dosierung (in Bezug auf Höhe) bei subcutaner Verabfolgung, so finden wir bei der Kreislaufanalyse nach Wezler und Böger:

1. Beim Otrivin wird die Blutdrucksteigerung durch Erhöhung der peripheren Widerstände hervorgerufen. Beim Veritol und mehr noch beim Sympatol durch Vergrößerung des Schlag- und Minutenvolumens unter Absinken der peripheren Widerstände.

Minutenvolumensteigerung
in % berechnet vom Ausgangswert (Mittelwert von je 3 Versuchen)

Otrivin	Veritol	Sympatol
− 40,6 %	+ 25,3 %	+ 46,7 %

2. Beim Otrivin geht die Erhöhung der peripheren Widerstände mit Erniedrigung des Schlag- und Minutenvolumens einher. Es wird angenommen, daß dieses Absinken der Herzleistung eine zentralnervös bedingte Gegenregulation gegen zu starke Blutdrucksteigerung und Herzbelastung ist.

Wenn der Vergleich mit den von Wezler eingeführten Krankheitsbezeichnungen erlaubt ist, so könnte man die Blutdrucksteigerung beim Otrivin als einen Widerstandshochdruck bezeichnen, die Drucksteigerung beim Veritol und Sympatol als einen Schlagvolumenhochdruck.

Nach Rein ist ein Kreislaufmittel, das eine Blutdrucksteigerung allein durch periphere Gefäßkonstriktion herbeiführt, ungeeignet für die Kollapsbehandlung, denn eine Steigerung des peripheren Strömungswiderstandes ist „die schwerste Zumutung, die man an das Herz stellen kann". „Wenn man den Druck heben will, dann soll man dies möglichst durch eine Vermehrung des venösen Angebotes und keineswegs durch Steigerung des Strömungswiderstandes tun."

Diese Forderung erfüllt nach Rein in besonderem Ausmaße das Veritol. Wenn wir unsere Kreislaufanalysen den tierexperimentellen Ergebnissen an die Seite stellen wollen, dann erfüllt das Sympatol diese Forderung fast noch besser (in gleichblutdruckwirksamer Dosierung), während das Otrivin danach ungeeignet wäre.

Wie wir zeigen konnten, haben die beiden sympatikomimetischen Mittel Veritol und Sympatol nicht nur eine ausgesprochene Herzwirkung, sondern die Herzleistung wie die Arbeit pro Herzschlag wird gesteigert und somit das Herz mehr belastet. Das ideale „periphere" Kreislaufmittel wäre ein solches, das die Peripherie konstringiert und den venösen Rückfluß fördert, ohne gleichzeitig das Herz sympaticotonisch aufzupeitschen. Denn in vielen Fällen von peripherem toxischem Kollaps möchte man das Herz nicht belasten, sondern nur die periphere Verblutung verhindern bzw. den Rückstrom zum Herzen fördern. Da, soweit uns bekannt ist, alle sympaticomimetischen Substanzen auch Herzwirkung entfalten, muß der Arzt sich dieser — vielleicht nicht immer unbedenklichen — Tatsache bewußt sein. Es wäre wünschenswert, die peripheren Kreislaufmittel auch einmal von diesem Gesichtspunkt aus weiter zu untersuchen. Von diesem Standpunkt aus gesehen wären bei bestimmter Indikation die rein peripher wirkenden Substanzen den adrenalinähnlichen vorzuziehen, wenn sie die obengenannten Forderungen erfüllen.

Die vergleichende Betrachtung gibt uns schließlich einen interessanten Einblick in die Gegenregulationen des Kreislaufs, die bei

dem störenden Eingriff einer blutdrucksteigernden Substanz auftreten. Erfolgt der Eingriff in erster Linie durch Vergrößerung des Schlagvolumens (Veritol, Sympatol), so wird offenbar durch Erniedrigung des peripheren und elastischen Widerstandes gegenreguliert. Der periphere Widerstand sank bis um — 42%, obgleich es sich doch um adrenalinähnliche Präparate handelt. Der elastische Widerstand stieg teils gar nicht, teils um weit geringere Werte an, als man rein druckpassiv hätte erwarten müssen. Erfolgt der Eingriff dagegen durch Erhöhung des peripheren Widerstandes (Otrivin), so wird überraschend durch Verkleinerung des Schlagvolumens und der Pulsfrequenz das Minutenvolumen wirksam gesenkt (bis — 52%). Es erfolgt also die Gegenregulation offenbar mit dem jeweils vom Pharmakon am wenigsten berührten Anteil des Kreislaufsystems in sinnvollster Weise zur Vermeidung zu starker Blutdruckerhöhungen. Unter Berücksichtigung solcher sinnvollen Regulationen müssen wir darum annehmen, daß z. B. beim Kollaps der Effekt unserer Mittel anders sein wird. Denn da handelt es sich ja nicht um eine Störung eines Gleichgewichts, sondern um einen Versuch zur Wiederherstellung der Störung. Man wird darum beim Kollaps kaum erwarten, daß der periphere Widerstand bei Veritol und Sympatol noch mehr sinkt — und auch kaum erwarten, daß das Minutenvolumen bei Otrivin weiter abfällt. Diese Gedankengänge fordern eine Prüfung beim Kollaps mit diesen neuen Methoden.

Zusammenfassung.

1. Es wurden drei Kreislaufmittel bei subcutaner Injektion in ihrer Wirkung auf den menschlichen Kreislauf an Rekonvaleszenten untersucht und miteinander verglichen:

a) Ein neues aromatisches Imidazolinderivat unter dem Interimsnamen Otrivin,

b) das Veritol,

c) das Sympatol.

2. Die Wirksamkeit auf den Blutdruck steigerte sich in der Reihenfolge Sympatol–Veritol–Otrivin. Im wesentlichen entsprachen 180 mg Sympatol = 20 mg Veritol = 1 mg Otrivin (3 ccm Sympatol = 1 ccm Veritol = 1 ccm Otrivin) subcutan, wobei eine Blutdrucksteigerung im Mittel von 25 mm Hg auftrat.

3. Die Dauer der blutdrucksteigernden Wirkung verhielt sich in dieser Dosierung etwa wie 40 : 80 : 200 Minuten beim Sympatol, Veritol und Otrivin.

4. Die Pulsfrequenz wurde bei Sympatol kaum beeinflußt. Bei Veritol trat oft eine geringe vorübergehende Bradykardie auf, bei Otrivin war diese ganz erheblich meist stundenlang, anhaltend.

5. Die adrenalinähnliche Wirkung des Otrivins legte es nahe, den Blutzucker nach Otrivininjektion kurvenmäßig zu verfolgen. Ein Anstieg erfolgte nicht.

6. Nach Otrivin fand sich, genau wie für Adrenalin und Sympatol beschrieben, eine Zunahme der zirkulierenden Blutmenge. Diese betrug bei Gesunden im Mittel 25%.

7. Otrivin, Veritol und Sympatol wurden mit der Kreislaufanalyse nach Wezler und Böger an 10 Rekonvaleszenten untersucht.

Die Analyse hatte folgendes Ergebnis:

a) Bei dem Otrivin handelt es sich um ein rein peripher wirkendes Kreislaufmittel mit langanhaltender Erniedrigung des Minutenvolumens und z. T. mit Verminderung des Schlagvolumens. Der periphere Widerstand steigt stark an (80—140% über eine Dauer von 1—3 Stunden).

b) Das Veritol greift am Herzen und der Peripherie an. Es kommt zu einem erheblichen Anstieg des Schlag- und Minutenvolumens, bei geringem Anstieg oder Gleichbleiben des peripheren Widerstandes. Die Blutdrucksteigerung ist im wesentlichen durch die Erhöhung des Schlagvolumens hervorgerufen.

c) Das Sympatol verhält sich ähnlich wie das Veritol, nämlich in der Steigerung des Schlag- und Minutenvolumens, doch ist die Wirkung noch ausgeprägter. Die Schlagvolumensteigerung geht mit einer Erniedrigung des peripheren Widerstandes einher.

8. Bei allen drei Präparaten ist die Schlagarbeit des Herzens gesteigert und die Systolendauer verkürzt, es tritt also übereinstimmend eine Mehrbelastung des Herzens pro Schlag auf. Diese ist bei Otrivin in erster Linie durch den Blutdruck verursacht, bei Veritol und Sympatol durch das Schlagvolumen. Dagegen ist die Herzleistung — und damit auch die Herzbelastung — pro Zeiteinheit bei Otrivin herabgesetzt, bei den beiden anderen Mitteln erhöht.

9. Veritol und Sympatol erzeugen einen Schlagvolumenhochdruck, Otrivin einen Widerstandshochdruck. Die Folgen dieser Umstellung auf den Kreislauf werden erörtert und die Eigentümlichkeit der Gegenregulationen.

Literatur.

Aub, R.: Z. Biol. **93**, 164 (1933). — Baumann, Joh.: Arch. klin. Chir. **189**, 347 (1937). — Barcroft, J.: Erg. Physiol. usw. **25**, 819 (1926). — Böger, A., B. Deppe u. K. Wezler: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 480 (1938). — Broemser, Ph.: Z. Biol. **93**, 149 (1933). — Broemser, Ph., u. O. F. Ranke: Z. Kreisl.forsch. **25**, 11 (1933); Z. Biol. **90**, 467 (1930). — Eppinger, H.: VI. Fortb.-Lehrgang in Bad Nauheim 1929, S. 91. — Eppinger, H., u. A. Schürmeyer: Klin. Wschr. **1928**, S. 777. — Gollwitzer-Meier, Kl.: Ref. Klin. Wschr. **1928**, S. 1202; Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **1938**. — Gollwitzer-Meier, Kl., u. Chr. Kroetz: Klin. Wschr. **1939**, S. 869. — Grab, W., S. Janssen u. H. Rein: Ebenda

1929, S. 1539. — Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935). — Grollmann, A.: Amer. J. Physiol. **86**, 285 (1928). — Grosse-Brockhoff: Dtsch. Archl klin. Med. **185**, 511—556 (1940). — Grosse-Brockhoff u. Kaldenberg: Klin. Wschr. **1937**, S. 948; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 383 (1938). — Grosse-Brockhoff u. Molineus: Dtsch. Arch. klin. Med. **185**, 483 (1940). — Hartwich, A., u. G. May: Z. exper. Med. **51**, H. 3/4 (1926); **53**, H. 5/6 (1927). — Heilmeyer, L.: Medizinische Spektrophotometrie. Jena, Verlag G. Fischer, 1933. — Hirsch, C., u. Stadler: Dtsch. Arch. klin. Med. **69**, 503. — Hochrein, M., u. J. Keller: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **156**, H. 1/6 (1930). — Kopp, H.: Dtsch. Z. Chir. **249**, 8 (1938). — Kuschinsky, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **156**, 290 (1930); Klin. Wschr. **1938**, S. 145. — Meyer, F., u. W. Spiegelhoff: Ebenda **1937**, S. 1342; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 256 (1938). — Oberdisse, K.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1934**. — Parade, G. W.: Klin. Wschr. **1938**, S. 479. Rein, H. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617 (1937); Arch. klin. Chir. **189** (1937); Knolls Mitteilungen f. Ärzte, 1936. — Schaumann, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **156**, 290 (1930). — Schneider, D.: Klin. Wschr. **1937**, S. 736. — Schneider, H.: Ebenda **1937**, S. 1169; **1932**, S. 1129. — Schneider, H., u. H. Kopp: Ebenda **1937**, S. 1672. — Schoen, R.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl. forsch. **1938**. — Schöndorf, Th.: Münch. med. Wschr. **1938**, S. 333. — Siebeck, R.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **1938**. — Trendelenburg, P.: Dtsch. med. Wschr. **1930**, Nr. 47. — Tünnerhoff, Fr., u. G. Schlomka: Med. Welt **1938**, Nr. 51. — Wezler, K. u. A. Böger: Erg. Physiol. usw. **41** (1939). — Zipf, K.: Klin. Wschr. **1937**, 1340.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. B.
(Direktor: Prof. S. Janssen.)

Die Pharmakologie des blutdruckwirksamen Stoffes der Mistel.

Von

Oswald Feuchtinger.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Juli 1940.)

Mittels der von Enders, Feuchtinger und Janssen ausgearbeiteten Routinemethode ist es uns gelungen, einen herz- und einen blutdruckwirksamen Anteil getrennt aus der Mistel zu gewinnen und beide Fraktionen weitgehend anzureichern. Während Enders den „Herzstoff" auf seine pharmakologischen Wirkungen untersuchte, befaßte ich mich mit der näheren Prüfung der gereinigten blutdrucksenkenden Fraktion. Im Laufe dieser Untersuchungen gelang es mir, auch einen Einblick in die chemische Natur des zugrunde liegenden blutdrucksenkenden Prinzips zu gewinnen. Von vornherein fielen uns bei der pharmakologischen Analyse am arteriellen Blutdruck von Katzen und Kaninchen folgende Tatsachen auf:

1. Die außerordentlich hohe Wirksamkeit unserer gereinigten Fraktionen. 5—10 γ der wirksamsten blutdrucksenkenden Fraktion, des sogenannten Standards, senkten nach intravenöser Zufuhr den arteriellen Blutdruck der Katze, 50—100 γ den des Kaninchens um 10 mm Hg.

2. Die Flüchtigkeit der Wirkung. Sie war ebenso wie der Grad der Blutdrucksenkung abhängig von der Dosis und Injektionsgeschwindigkeit.

Mißt man die Erholungszeit vom tiefsten Punkt der Blutdrucksenkung bis zur Erreichung der Ausgangshöhe, so kann man mit zunehmender Reinigung der Fraktionen im Laufe der Routinemethode zunehmende Verkürzung der Erholungszeiten feststellen. Mit den gereinigten Fraktionen erhielten wir dieselben Proportionen zwischen Dosis und Erholungszeit wie zwischen Dosis und Blutdrucksenkung in mm Hg. Auch bei Berücksichtigung sowohl von Erholungszeit, Blutdrucksenkung und Verlauf der Blutdruckzacke durch Vergleich der planimetrisch ausgemessenen Blutdruckzacken bekam ich dieselben Ergebnisse, d. h.: Es genügt zur Beurteilung der Wirksamkeit einer blutdrucksenkenden Fraktion jeweils die Messung der Blutdrucksenkung in mm Hg.

Diese besondere Form der arteriellen Blutdrucksenkung nach intravenöser Injektion gereinigter Mistelpräparate, welche sehr an Azetylcholin erinnert, gab uns überhaupt erst die Möglichkeit, die Anreicherung des blutdrucksenkenden Prinzips im Verlaufe der Routinemethode quantitativ zu erfassen.

3. Das völlige Fehlen von Extrasystolen und Arrhythmien, wie wir sie beim Herzstoff beobachteten (vgl. Abb. 1, oben).

4. Das regelmäßige Auftreten von Vaguspulsen während des Blutdruckabfalls (vgl. Abb. 1, oben).

5. Das Verhalten des Venendrucks, welcher während der arteriellen Drucksenkung nicht ansteigt (vgl. Abb. 1, oben)*.

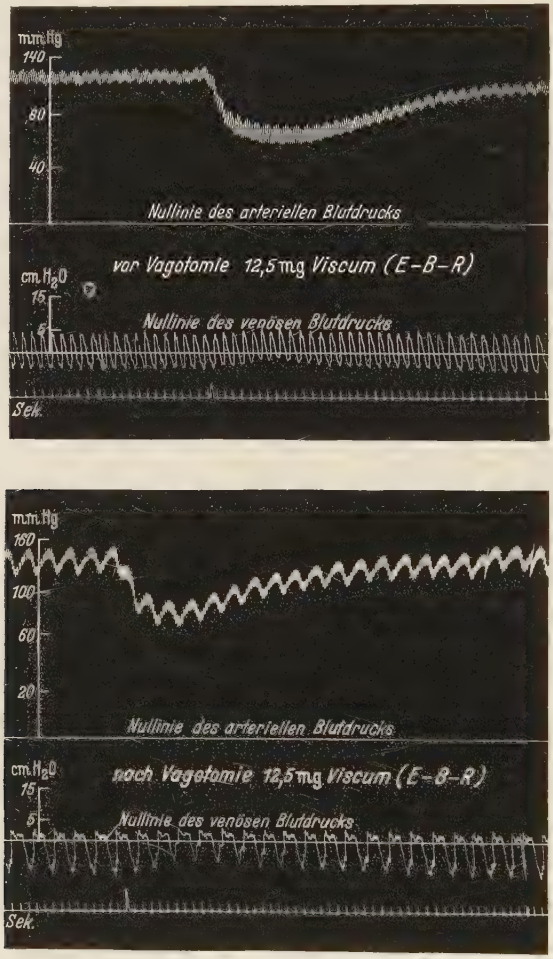


Abb. 1

Versuch: 22. Februar 1940. Kaninchen, 2,4 kg. Membranmanometer.
E-B-R: Eisessig-Benzol-Restlösung der Routinemethode.
Oben: Vorübergehende Blutdrucksenkung nach Injektion einer gereinigten blutdrucksenkenden Fraktion. Vaguspulse. Keine Arrhythmien. Kein Ansteigen des Venendrucks.
Unten: Dieselbe Senkung nach Vagotomie.

* Es wurde in diesem Versuch absichtlich eine sehr hohe Dosis blutdrucksenkender Substanz gegeben, um das Verhalten des Venendruckes zu beobachten.

Auch die herzwirksame Fraktion senkt nach einer gewissen Latenzzeit, sofern sie in hohen Dosen injiziert wird, den arteriellen Blutdruck. Diese Senkung unterscheidet sich aber von der Senkung, welche durch die blutdrucksenkende Fraktion hervorgerufen wird, in zwei wesentlichen Punkten: Das Absinken des Blutdrucks erfolgt allmählich und ist von Dauer. Gleichzeitig mit dem Absinken des arteriellen Blutdrucks steigt der venöse Druck an. Dieses Verhalten kann man als den Ausdruck einer gestörten Herztätigkeit, im engeren Sinne als eine Verminderung der Herzleistung betrachten. Dagegen steigt der Venendruck nach Injektion gereinigter blutdrucksenkender Mistelfraktionen während des vorübergehenden arteriellen Blutdruckabfalls niemals an. Dies ist erst dann der Fall, wenn eine hochkonzentrierte tödliche Dosis einer solchen Fraktion plötzlich injiziert wird. Derartige Unterschiede weisen bereits darauf hin, daß es sich bei dem herzwirksamen und blutdruckwirksamen Prinzip aus Viscum album um zwei grundsätzlich verschiedene Stoffe handelt.

Wir haben bisher nur die Registrierung des Blutdrucks betrachtet. Wie aber verhielt sich das Tier selbst auf mehrere Injektionen unseres blutdrucksenkenden Mistelpräparats hin?

In allen Versuchen mit gereinigten blutdrucksenkenden Mistelfraktionen konnten wir recht typische Allgemeinsymptome beobachten. Die Tränen- und Speichelsekretion war extrem, die Pupillen stark verengt, der Bulbus deutlich vorgetrieben. Die Atmung der Tiere war vertieft und eher verlangsamt als beschleunigt. All diese Reaktionen sind uns aber als Zeichen eines parasympathischen Reizzustandes bekannt. Unsere nächste Frage war also folgende: Kam die von uns beobachtete Blutdrucksenkung durch einen direkten Reiz des Mistelstoffes auf die parasympathischen Nervenendigungen zustande oder spielte hierbei das Zentralnervensystem im Sinne von Jarisch eine ausschlaggebende Rolle?

Jarisch nimmt an, daß besondere sensible depressorische, im Herzmuskel endigende und im Halsvagus verlaufende Nervenfasern durch Mistelstoffe gereizt werden. Die Blutdrucksenkung soll also nach Art eines Reflexes ausgelöst werden, so daß sie nach Unterbrechung der nervösen Leitung im Halsvagus nicht mehr zustande kommen kann. Atropin soll umgekehrt nur insofern den Druck erhöhen, als es die begleitende Bradykardie beseitigt, ohne aber auf den Grundmechanismus einen Einfluß zu haben. Wir selbst haben in mehreren Versuchen die N. vagi durchschnitten. Die Injektion gleicher Mengen unserer gereinigten blutdrucksenkenden Mistelfraktion (Eisessig-Benzol-Restlösung der Routinemethode von Enders, Feuchtinger und Janssen) hatte vor und nach der Vagotomie sowohl qualitativ als auch quantitativ dieselbe Wirkung auf den Blutdruck (vgl. Abb. 1). Wir haben niemals eine teilweise oder vollständige Aufhebung der blutdrucksenkenden Wirkung gesehen, wenn einige Minuten nach der Vagotomie eine blutdrucksenkende Mistellösung injiziert wurde.

Unterbricht man während einer durch Mistel verursachten Blutdrucksenkung die N. vagi, so erfolgt allerdings trotz weiterer Infusion des Mistelextrakts ein Anstieg des Blutdruckes. Es ist dabei gleichgültig, ob man den herzwirksamen (Enders) oder blutdruckwirksamen Anteil (Feuchtinger) der Mistel infundiert. Dasselbe ist der Fall, wenn eine einzige subletale Dosis des herzwirksamen Extraktes (Jarisch) oder eine hohe Dosis des blutdruckwirksamen Stoffes (Feuchtinger) injiziert wird und dann während der Blutdrucksenkung die N. vagi ausgeschaltet werden.

Diese Tatsache zieht Jarisch zur Erklärung der reflektorischen Wirkung der Mistel auf dem Wege der genannten depressorischen Nerven heran. Die Erscheinung, daß der Blutdruck ansteigt, wenn man den N. vagus während einer Blutdrucksenkung durchschneidet, ist aber keineswegs für die Mistel spezifisch. Erzeugt man durch Dauerinfusion von Azetylcholin eine Blutdrucksenkung und durchschneidet man während dieser Blutdrucksenkung die N. vagi, so erfolgt trotz fortgesetzter Infusion auch hier ein Druckanstieg bis zur Norm oder etwas darüber (vgl. Abb. 2, oben). Dasselbe ist der Fall, wenn man eine einzige große Dosis Azetylcholin injiziert, welche etwa für die Dauer von 1—2 Minuten den Blutdruck um 40 mm Hg senkt. Durchschneidet man hier $^1/_2$ Minute nach Injektionsbeginn die N. vagi, so erfolgt auch hier nach wenigen Sekunden der Anstieg des Blutdruckes zur Norm oder darüber (vgl. Abb. 2, unten).

Die Erhöhung des Blutdruckes nach Vagotomie im Verlaufe einer Blutdrucksenkung stellt also eine ganz allgemeine Erscheinung dar, welche nicht nur dem Mistelherzstoff und dem Mistelblutdruckstoff, sondern auch dem Azetylcholin und, wie Jarisch ausführt, auch dem Veratrin zukommt.

Wie ausführlich beschrieben wurde, liegt der Blutdrucksenkung, welche nach Dauerinfusion des herzwirksamen Stoffes zustande kommt, ein ganz anderer Mechanismus zugrunde als der Blutdrucksenkung durch den gereinigten blutdruckwirksamen Mistelstoff. Dennoch läßt auch hier die Vagusdurchschneidung während der Infusion des herzwirksamen Stoffes den Blutdruck momentan zur Norm zurückkehren. Es handelt sich also um einen Vorgang, der nicht einmal an die Art der Blutdrucksenkung — infolge verminderter Herzleistung oder peripherer Gefäßerweiterung — gebunden ist.

Es bleibt nur noch die Möglichkeit, daß zu den Wirkungen des Herzstoffes auf den Herzmuskel und zu den Wirkungen des Blutdruckstoffes auf die peripheren Gefäße ein accessorischer Reiz dieser Stoffe auf die im Herzen endigenden depressorischen Nerven hinzukommt. Bei der Annahme eines derartigen accessorischen, die Blutdrucksenkung mitbedingenden Reizes würden wir allerdings nicht erwarten, daß der Blutdruck nach Durchschneidung der N. vagi vollkommen bis zur Norm zurückkehrt, vor allem, wenn wir der nach Vagusdurchschneidung einsetzenden Pulsbeschleunigung keine Bedeutung zumessen wollen. Gegen die Annahme

eines chemisch depressorischen Reflexes sprechen auch unsere Befunde, daß die Wirkung unseres blutdrucksenkenden Stoffes am intakten Tier durch Atropin vollkommen aufgehoben wird, während die durch die muskuläre Insuffizienz bedingte Blutdrucksenkung durch den Herzstoff nach Atropin natürlich keine Schwächung erfährt. Handelte es sich um einen chemisch

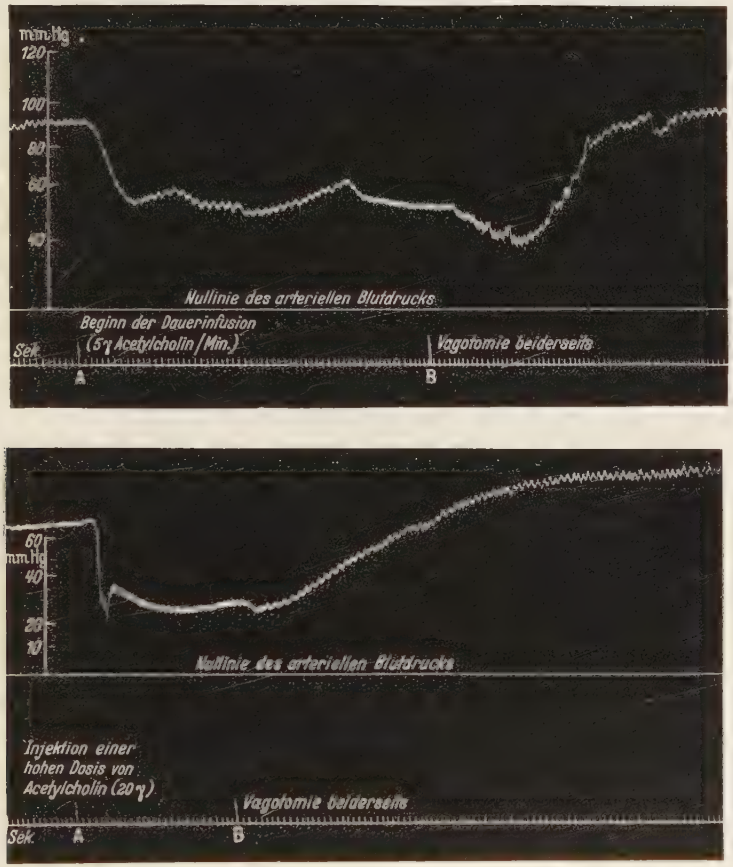


Abb. 2.

Versuch: 23. Juni 1940. Kaninchen, 3 kg. 26. Juni 1940. Kaninchen, 2,8 kg. Hg-Manometer
Verhalten des Blutdrucks nach Vagusdurchschneidung während einer Blutdrucksenkung durch Dauerinfusion von Azetylcholin (oben) oder einmalige Injektion einer großen Dosis von Azetylcholin (unten).

depressorischen Reflex, so müßte die Blutdrucksenkung durch den gereinigten Blutdruckstoff auch nach Atropin bestehen bleiben.

Auch an der dekapitierten Katze, bei der sämtliche nervösen Reflexe, die vom Gehirn und der Medulla oblongata ausgehen, ausgeschaltet sind, finden wir dieselbe Blutdrucksenkung wie am normalen Tier nach intravenöser Injektion des blutdrucksenkenden Mistelstoffes. Nur das Ausmaß

der Senkung ist geringer, da an diesen Präparaten der Blutdruck regelmäßig von 180—160 mm Hg auf 80—60 mm Hg sinkt. Injizierten wir einem

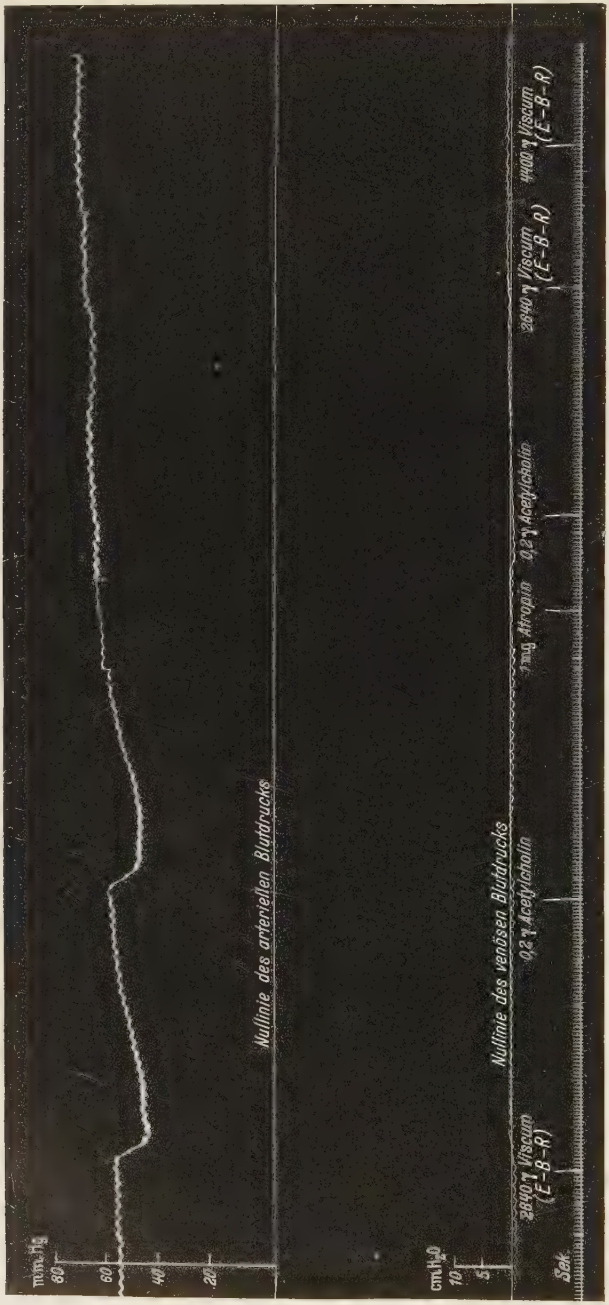


Abb. 3.

Versuch: 28. November 1939. Dekapitierte Katze, 2,2 kg. Membranmanometer. *E-B-R* = Eisessig-Benzol-Restlösung.

solchen Tier aber 1 mg Atropin, so konnten wir nach derselben, aber auch der doppelten vorher wirksamen Menge unseres Stoffes nicht die geringste Blutdrucksenkung mehr beobachten (vgl. Abb. 3). Eine vollkommene Aufhebung der blutdrucksenkenden Wirkung durch Atropin sahen wir, wie gesagt, aber auch am intakten Tier.

Aus all diesen Versuchen, der völlig gleichen Blutdruckwirkung vor und nach Vagotomie, der Blutdrucksenkung am dekapitierten Tier und der Aufhebung der Wirkung an der atropinisierten Katze, müssen wir schließen, daß es sich bei dem blutdruckwirksamen Prinzip aus der Mistel um ein reines peripheres parasympathisches Gift handelt. Warum auf all diese Fragen bisher keine einheitliche Antwort gefunden werden konnte, soll später noch eingehend erörtert werden.

Handelt es sich nun bei diesem parasympathischen Reizstoff aus der Mistel um einen bisher unbekannten Stoff oder ist dieser identisch mit irgendeinem der uns bekannten parasympathischen Gifte?

Berücksichtigen wir neben dem Verhalten am normalen, vagotomierten, dekapitierten und atropinisierten Tier die geschilderten Allgemeinsymptome, die Löslichkeit der blutdrucksenkenden Fraktion in Wasser und Alkohol, sowie die von uns festgestellte Unlöslichkeit in Äther, so liegt die Vermutung doch recht nahe, daß wir es hier mit einer cholin- bzw. cholinesterartigen Substanz zu tun haben, wie dies schon Kochmann und Müller angenommen haben. Die hohe Wirksamkeit unserer gereinigten Mistelfraktionen ließ sich mit einer reinen Cholinwirkung allerdings nicht mehr vereinbaren. Denn während erst 500 γ Cholin den Blutdruck der Katze senken, war dies bei den am weitesten gereinigten Mistelfraktionen bereits bei 5 10 γ der Fall. Wenn es sich also überhaupt um eine cholinartige Substanz handelte, so konnte dies nur ein Cholinester, beispielsweise vom Typus des Azetylcholins sein. Denn dieses senkt bereits in Dosen von $^1/_{20}$—$^1/_{100}$ γ den arteriellen Blutdruck von Katzen und Kaninchen.

Zur näheren Klärung dieser Frage wandte ich mich einer Reihe speziellerer Untersuchungen, und zwar der Prüfung unseres Mistelstoffes auf bekannte Kriterien auf Azetylcholin und andere Cholinester zu.

Geben wir zu einer in Wasser gelösten blutdruckwirksamen Mistelfraktion (Eisessig-Benzol-Restlösung der Routinemethode) ein gleiches Volumen Natronlauge, so verliert diese Lösung bereits nach wenigen Stunden ihre Wirksamkeit (vgl. Tabelle 1). Läßt man die wässerige Lösung, welche gegen Kongorot neutral gemacht wurde, einige Tage bei Zimmertemperatur stehen, so zeigt sich ebenfalls eine starke Abnahme der Wirksamkeit. Nach einigen Wochen ist die Lösung vollständig unwirksam. Dagegen hält sich die wässerige, gegen Kongorot saure Lösung bis zu einigen Wochen, ohne an Wirksamkeit stark abzunehmen. Auch kann man eine solche Lösung einige Stunden lang kochen, ohne daß sie unwirksam wird. Starke Mineralsäuren zerstören dagegen das blutdrucksenkende Prinzip der Mistel. Die hohe Alkaliempfindlichkeit sowie die Empfindlichkeit gegenüber

Tabelle 1. Die Zerstörung der blutdrucksenkenden Fraktion aus Viscum album durch Natronlauge.

E-B-R = Eisessig-Benzol-Restlösung der Routinemethode. Versuch: 7. Nov. 1939. Katze 3 kg.

Injizierte Menge in je 1 ccm Wasser gelöst	Blutdrucksenkung in mm Hg
500 γ Viscum (E-B-R)	10
900 γ Viscum (E-B-R)	20
Nach Hinzufügung von je 1 ccm doppelt normaler Natronlauge	
500 γ Viscum (E-B-R)	0
900 γ Viscum (E-B-R)	0

starken Mineralsäuren, die Beständigkeit in saurer wässeriger Lösung, die Löslichkeit in Wasser und Alkohol sowie die Unlöslichkeit in wasserfreiem Äther und die erwähnte Hitzebeständigkeit sind uns aber gleichermaßen von den Cholinestern bekannt.

Handelte es sich um einen Cholinester, so mußte unsere blutdrucksenkende Mistelfraktion ebenso wie Azetylcholin im Blute zerstört werden und ihre pharmakologische Wirksamkeit verlieren. Diese Zerstörung des Azetylcholins beruht bekanntlich auf einer hydrolytischen Spaltung des Esters, welche höchstwahrscheinlich unter Vermittlung eines Ferments, der sogenannten Cholinesterase, zustande kommt. Das Ergebnis eines solchen Versuches zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2. Die Zerstörung der blutdrucksenkenden Fraktion aus Viscum album durch Blut.

E-B-R = Eisessig-Benzol-Restlösung nach der Routinemethode von Janssen. Versuch: 1. Juni 1939. Kaninchen 3 kg.

Injizierte Menge	Blutdrucksenkung in mm Hg
$^1/_{50}$ γ Azetylcholin	18
100 γ Viscum (E-B-R)	20
1 ccm Citratblut	2
$^1/_{50}$ γ Azetylcholin in 1 ccm Citratblut	2
100 γ Viscum (E-B-R) in 1 ccm Citratblut	4
$^1/_{10}$ γ Azetylcholin in 1 ccm Citratblut	2
500 γ Viscum (E-B-R) in 1 ccm Citratblut	4

Wir injizierten einem Kaninchen nacheinander Azetylcholin und eine gereinigte blutdrucksenkende Mistelfraktion, so daß gleiche Blutdrucksenkungen resultierten. Dieselben Mengen lösten wir in je 1 ccm Blut, dem zuvor etwas Natrium citricum zugesetzt war. Nach 3 Minuten erfolgte die Reinjektion dieses Blutes. Es kam daraufhin keinerlei Blutdruck-

senkung mehr zustande. Auch auf die 5fache intravenös wirksame Menge von Azetylcholin und Viscum blieb der Blutdruck praktisch konstant.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß das blutdruckwirksame Prinzip aus Viscum album im Blute zerstört wird.

Allerdings könnte mit Recht eingewendet werden, daß die Zerstörung des Mistelstoffes durchaus nicht durch die Esterase erfolgt sein müsse. Zur Entscheidung dieser Frage führte ich einige weitere Versuche durch: Handelte es sich tatsächlich um einen Cholinester, der im Blute durch die Esterase zerstört worden war, so mußte sich die Wirkung unserer Mistellösung umgekehrt durch Physostigmin steigern lassen. Denn Physostigmin wirkt spezifisch hemmend auf die Cholinesterase ein. Dieses war tatsächlich der Fall.

Wir injizierten nacheinander je eine Dosis von Azetylcholin und einer blutdrucksenkenden Viscumlösung (Eisessig-Benzol-Restlösung). Die Blutdrucksenkung betrug jedesmal 10 mm Hg. Nach Injektion von zweimal $^1/_4$ mg Physostigmin trat auf dieselben Dosen jeweils eine Steigerung der Blutdrucksenkung um 10 mm ein (vgl. Tabelle 3).

Tabelle 3. Wirksamkeitssteigerung der blutdrucksenkenden Fraktion aus Viscum album durch Physostigmin.

E-B-R = Eisessig-Benzol-Restlösung der Routinemethode. Versuch: 24. Nov. 1939. Katze, 2,9 kg.

Injizierte Menge	Blutdrucksenkung in mm Hg
$^1/_{20}\,\gamma$ Azetylcholin	10
$800\,\gamma$ Viscum (E-B-R)	10
Nach $2 \times {}^1/_4$ mg Physostigmin:	
$^1/_{20}\,\gamma$ Azetylcholin	20
$800\,\gamma$ Viscum (E-B-R)	18

Zur Ergänzung unserer pharmakologischen Analyse prüfte ich noch die Wirkung blutdrucksenkender Fraktionen aus Viscum album auf isolierte Organe. Die gereinigten Mistellösungen kontrahierten ebenso wie Azetylcholin den in Eserin suspendierten isolierten Rückenhautmuskel des Blutegels (vgl. Abb. 4), den isolierten Kaninchendarm (vgl. Abb. 5) sowie den isolierten Meerschweinchenuterus (vgl Abb. 6). An den beiden letztgenannten Organen wurde die Wirkung durch Atropin aufgehoben. Am Straubschen Froschherz zeigte sich eine Verminderung der Amplitudengröße und eine Verlangsamung der Herzschlagfolge. Beide Wirkungen waren auswaschbar.

Nach all diesen Versuchsergebnissen sind wir zu der Annahme berechtigt, daß das blutdrucksenkende Prinzip in den von uns weitgehend gereinigten Mistelfraktionen einen Cholinester darstellt.

Damit kann jedoch noch nicht als erwiesen gelten, daß dieser Ester auch bereits in der Droge selbst vorhanden war. Da wir die Droge nämlich im Verlaufe unseres Routineverfahrens mehrfach mit Eisessig ausgezogen hatten, bestand durchaus die Möglichkeit, daß wir durch dieses Verfahren die Muttersubstanz der Cholinester, das Cholin, überhaupt erst azetyliert hatten. Wir gingen dieser Frage nach, indem wir prüften, ob sich der Trockenrückstand eines einfachen wässerigen Extraktes durch die Einwirkung — wohlgemerkt nicht die Extraktion — von Eisessig in seiner

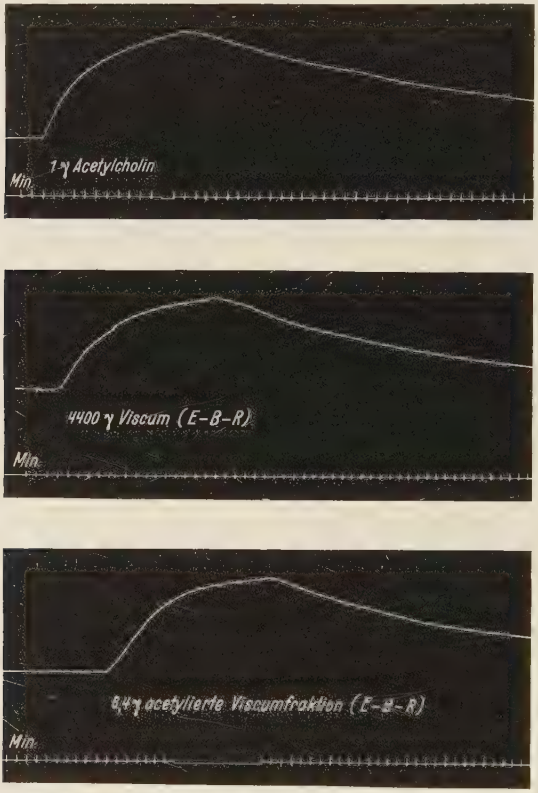


Abb. 4.
Versuch: 24. November 1939. Isolierter Rückenhautmuskel des Blutegels.
E-B-R = Eisessig-Benzol-Restlösung der Routinemethode.
Azetylierte Viscumfraktion = vgl. Text S. 440.

Wirksamkeit steigern ließ. Eine weitere Wirksamkeitssteigerung mußte sich aber durch ein noch stärkeres Azetylierungsmittel, nämlich Azetylchlorid, erzielen lassen.

Von dem Trockenrückstand eines wässerigen T_3-Extraktes[1] wurden drei gleiche Gewichtsmengen abgewogen. Der erste Teil wurde ohne weitere

[1] Vgl. Enders, Feuchtinger u. Janssen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 290 (1940).

Behandlung zur späteren Auswertung beiseite gestellt. Den zweiten Teil lösten wir in der 3fachen Menge Eisessig und ließen Extrakt samt Niederschlag 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur in einer Petri-Schale stehen. Sodann wurde der Eisessig — ohne vorherige Trennung von Niederschlag und Restlösung — in derselben Schale abgedunstet. Der resultierende

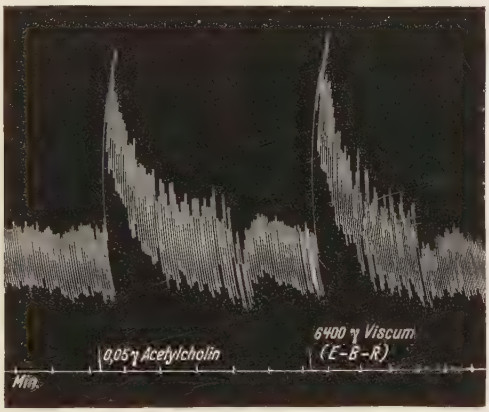


Abb. 5
Versuch: 27. Juni 1939. Kaninchendünndarm.
E-B-R = Eisessig-Benzol-Restlösung der Routinemethode.

Abb. 6.
Versuch: 7. Juli 1939. Meerschweinchenuterus.
Standard = Viscumstandardlösung nach der Routinemethode von Janssen.

Trockenrückstand wurde zur Auswertung beiseite gestellt. Der dritte aliquote Teil des aus wässerigem Extrakt gewonnenen Trockenrückstandes wurde im Vakuum bei 90° 1 Stunde lang mit Azetylchlorid azetyliert. Sämtliche Fraktionen, der einfache Trockenrückstand des wässerigen T_3-Extrakts, der mit Eisessig behandelte sowie der mit Azetylchlorid azetylierte Teil wurden nach Auflösung in derselben Menge Wasser im Blutdruckversuch am Kaninchen mit Azetylcholin verglichen. Außerdem wurde eine gereinigte blutdrucksenkende Fraktion (Eisessig- Benzol-Restlösung der Routinemethode) mittels Azetylchlorid azetyliert.

Das Ergebnis dieses Versuchs ist aus Tabelle 4 ersichtlich. Danach ließ sich der einfache wässerige Extrakt durch Azetylieren mittels Eisessig auf das 5fache, mittels Azetylchlorid auf das 600fache in seiner Wirksam-

Tabelle 4. Wirksamkeitssteigerung verschiedener blutdrucksenkender Fraktionen aus Viscum album durch Azetylierung.

(Wirkungsverhältnis gegenüber Azetylcholin.)
E-B-R = Eisessig-Benzol-Restlösung der Routinemethode.

Wässriger Extrakt	:	Azetylcholin = 1 : 1 500 000
Wässriger Extrakt nach Eisessigbehandlung	:	Azetylcholin = 1 : 300 000
Wässriger Extrakt nach Azetylierung mittels Azetylchlorid	:	Azetylcholin = 1 : 2 500
Gereinigte Viscumfraktion (E-B-R)	:	Azetylcholin = 1 : 15 000
Gereinigte Viscumfraktion (E-B-R) nach Azetylierung mittels Azetylchlorid	:	Azetylcholin = 1 : 37

keit steigern. Azetyliert man eine gereinigte Fraktion des Routineverfahrens mittels Azetylchlorid, so läßt sich diese noch um das 400fache in ihrer Wirksamkeit verstärken, so daß schließlich ein Wirkungsverhältnis von azetylierter Fraktion : Azetylcholin = 1 : 37 resultiert. Am Blutegeltest fanden sich dieselben quantitativen Verhältnisse. Auch hier zeigte die azetylierte gereinigte Fraktion eine außerordentlich hohe Wirksamkeit (vgl. Abb. 4).

Tatsächlich liegen die Verhältnisse noch etwas komplizierter. Denn die Wirksamkeitssteigerung durch Azetylierung mittels Azetylchlorid geht nicht nur auf die Azetylierung als solche, sondern auch auf eine gleichzeitige Verminderung des Trockengewichts zurück. Der Trockenrückstand des wässerigen T_3-Extrakts ist nämlich nach der Azetylierung mittels Azetylchlorid nicht mehr vollständig in Wasser löslich. Berücksichtigt man, daß das Trockengewicht der wässerigen Lösung nach der Azetylierung etwa $^1/_6$ des ursprünglichen Trockengewichts vor der Azetylierung und nachfolgenden Auflösung in Wasser beträgt, so wurde durch die Azetylierung als solche eine entsprechend geringere Wirkungssteigerung erreicht.

Aus diesem Versuch geht also hervor, daß zum mindesten ein Teil der Droge ursprünglich nicht aus dem Ester, sondern aus reinem Cholin bestand. Der Träger der blutdrucksenkenden Wirkung in der von uns verwandten Droge stellt vielmehr ein Gemisch von Cholin und einem Cholinester dar.

Gemeinsam mit Herrn Enders habe ich in gleicher Weise auch den Herzstoff aus der Mistel azetyliert und dessen Wirksamkeit vor und nach Azetylierung untersucht. Es zeigte sich, daß der Herzstoff durch die Azetylierung keineswegs an Wirksamkeit gewann. Er verlor vielmehr $^1/_3$—$^1/_4$ seiner Wirksamkeit. Dabei ist der zerstörende Einfluß des einstündigen Erhitzens auf 90° zu berücksichtigen. Dieses verschiedene Verhalten des blutdruckwirksamen und herzwirksamen Prinzips aus der Mistel erscheint uns als ein weiterer Beweis für die Verschiedenheit beider Stoffe.

Die azetylierte sowie auch die reine Herzfraktion aus Viscum album wurde ebenfalls am isolierten Rückenhautmuskel des Blutegels ausgewertet. Während 6,4 γ einer gereinigten azetylierten blutdrucksenkenden Viscumfraktion eine starke Kontraktion des Blutegelmuskels zur Folge hatte (vgl. Abb. 4), kontrahierte sich der Muskel nicht auf 1000 γ des azetylierten

oder 1000 γ des reinen Herzstoffes. Dies ist ein weiterer Beweis dafür, daß der durch das Routineverfahren gewonnene Herzstoff völlig frei von blutdrucksenkender Substanz ist.

Wie war es nun möglich, daß man sich bisher weder bezüglich der pharmakologischen Wirkungen noch der chemischen Natur der blutdrucksenkenden Substanz der Mistel einigen konnte? Eine Vielzahl von Erscheinungen war bekannt. Es wurden flüchtige initiale Blutdrucksenkungen und sogenannte Hauptblutdrucksenkungen, die von Dauer waren, gesehen, man sprach von atropinhemmbaren und nicht atropinhemmbaren Drucksenkungen und von wenigstens drei chemisch verschiedenen depressorischen Stoffen. Es war unmöglich, all diese einander widersprechenden Versuchsergebnisse unter einigermaßen einheitlichen Gesichtspunkten zu ordnen. Wie ist es andererseits zu erklären, daß wir mit unseren gereinigten Fraktionen sowohl quantitativ als qualitativ an den verschiedensten Testobjekten immer dieselben übereinstimmenden Resultate erhielten, deren nähere Deutung keinen besonderen Schwierigkeiten begegnete?

Der Grund hierzu ist folgender:

Alle Untersucher haben entweder einfache wässerige (Infuse, Dedokte, Kaltwasserauszüge) oder verschiedenprozentige alkoholische Extrakte aus der Nativdroge zur Prüfung der Blutdruckwirksamkeit verwandt. Sämtliche wässerigen Auszüge enthalten jedoch zufolge der beiden Stoffen gemeinsamen Wasserlöslichkeit neben zahlreichen Verunreinigungen sowohl die herzwirksame als auch die blutdruckwirksame Komponente. Dasselbe gilt für niederprozentige alkoholische Auszüge, welche nach einfacher Extraktion eine noch ziemlich erhebliche Herzwirkung entfalten, während die Auszüge mit reinem Alkohol noch so viele Verunreinigungen (Chlorophyll, Harze, fettlösliche Substanzen) enthalten, daß sich im biologischen Versuch kein klares Bild ergeben kann.

Nach jeder Einzelinjektion unserer gereinigten blutdruckwirksamen Fraktionen trat nach einer vorübergehenden Blutdrucksenkung vollkommene Erholung ein. Die Tiere reagierten oft noch nach über 30 Injektionen mit einer Blutdrucksenkung, welche der von uns gefundenen Proportion zwischen Dosis und Wirkung entsprach. Dagegen waren alle Tiere, an denen wir wässerige oder alkoholische Rohextrakte auswerteten, schon nach wenigen Injektionen als Test unbrauchbar. Das Verhältnis von Herzwirkung zu Blutdruckwirkung ist besonders in den wässerigen Extrakten so weit nach der Seite der Herzwirkung verschoben, daß eine Blutdrucksenkung ohne gleichzeitige starke Herzwirkung nicht erreicht werden kann.

Ebster versuchte schon, dieser Schwierigkeit durch Kochen der Droge zu begegnen. Die Droge soll dadurch an Herzgiftigkeit einbüßen. Jedoch sind derartige Extrakte noch nicht völlig frei von Herzwirksamkeit. Auch

die von Kochmann verwandten sowie die von Rojahn und Müller dargestellten Fraktionen wiesen noch eine ziemlich erhebliche Toxizität auf.

Die Verschiedenheit der pharmakologischen Wirkungen aber erklärt sich ohne weiteres aus den vielfachen Möglichkeiten einer Interferenz des herz- und blutdruckwirksamen Stoffes.

Berücksichtigt man diese Tatsache, so sind die Bilder im einzelnen häufig gut zu erklären. So stellt z. B. die so oft beschriebene, länger andauernde Blutdrucksenkung eine Folge der verminderten Herzleistung und nicht der Injektion des blutdrucksenkenden Stoffes dar. Denn die blutdrucksenkende Komponente tritt bei derartigen wässerigen Extrakten gegenüber der herzwirksamen weit in den Hintergrund. Im einzelnen sind diese Unterschiede bereits beschrieben (vgl. S. 433).

Zum Schluß prüften wir noch die orale Wirksamkeit der blutdrucksenkenden Fraktion und führten Wertbestimmungen der bekanntesten Handelspräparate[2] auf ihre Herz- und Blutdruckwirksamkeit durch.

Über die orale Wirksamkeit des Herzstoffes hat Enders in dieser Zeitschrift berichtet.

Nach meinen Versuchen über die orale Wirksamkeit gereinigter blutdrucksenkender Mistelfraktionen erschien eine therapeutische Verwertbarkeit der Mistel als Antihypertonicum von vornherein als aussichtslos. Wir konnten nämlich zeigen, daß der Blutdruckstoff aus der Mistel ebenso wie Azetylcholin zum großen Teil in der Leber zerstört wird. Die 10fache Menge einer gereinigten Viscumlösung, welche nach Injektion in die V. jugularis eine Blutdrucksenkung von 15 mm zur Folge hatte, senkte den Blutdruck nach Injektion in die Pfortader nicht mehr.

Eine zusätzliche Zerstörung des Blutdruckstoffes aus der Mistel und ebenso der Cholinester findet im Magen-Darmkanal statt. Die 150000fache Menge der intravenös (V. jugularis) wirksamen Dosis sowohl von Viscum-Standardlösung als auch Azetylcholin senkte nach peroraler Zufuhr den Blutdruck nach Ablauf einer Stunde nicht.

Überblicken wir zum Schluß nochmals das chemische und pharmakologische Verhalten der beiden von uns isolierten Wirkstoffe aus der Mistel, so läßt sich sagen, daß es sich um zwei grundsätzlich verschiedene Stoffe handelt, von denen der eine an der Herzmuskulatur, der andere als ein parasympathischer Reizstoff insbesondere an den peripheren Gefäßen angreift.

Zusammenfassung.

1. Gereinigte Fraktionen aus Viscum album, welche nach der Routinemethode von Enders, Feuchtinger und Janssen gewonnen wurden, senken nach Injektionen in die V. jugularis den arteriellen Blutdruck von Katzen und Kaninchen. Die Senkung ist vorübergehend. Während des

[2] Über diese wird an anderer Stelle berichtet werden.

Blutdruckabfalls treten regelmäßig Vaguspulse auf. Extrasystolen und Arrhythmien wurden nie beobachtet. Der Venendruck steigt während des vorübergehenden arteriellen Blutdruckabfalles nicht an.

2. Die Allgemeinsymptome lassen darauf schließen, daß es sich bei dem blutdruckwirksamen Prinzip aus der Mistel um einen parasympathischen Reizstoff handelt.

3. Versuche am vagotomierten, dekapitierten und atropinisierten Tier zeigen, daß die Blutdrucksenkung über eine Reizung der peripheren Nervenendigungen ohne Beteiligung des Zentralnervensystems zustande kommt.

4. Die gereinigten blutdrucksenkenden Fraktionen aus Viscum album bewirken dieselben biologischen Reaktionen wie bekannte Cholinester.

5. Die blutdrucksenkenden Mistelfraktionen sind oral nicht wirksam.

6. Der Vergleich der pharmakologischen Analyse des herzwirksamen und blutdruckwirksamen Prinzips aus der Mistel führt zu der Folgerung, daß es sich um zwei grundsätzlich verschiedene Stoffe handelt.

Literatur.

1) Dressler, Kwiatkowski u. Schilf: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **170**, 428 (1933). — 2) Ebster: Ebenda **145**, 312 (1929). — 3) Ebster u. Jarisch: Ebenda **145**, 297 (1929). — 4) Enders, Feuchtinger u. Janssen: Ebenda **196**, 290 (1940). — 5) Enders: Ebenda **196**, 328 (1940). — 6) Jarisch: Klin. Wschr. **18**, 145 (1939). — 7) Jarisch u. Richter: Ebenda S. 185. — 8) Jarisch u. Henze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 30 (1939). — 9) Kochmann: Ebenda **161**, 553 (1931). — 10) Müller: Arch. Pharm. **1932**, S. 451. — 11) Nolle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 90 (1930). — 12) Richter u. Schröcksnagel: Ebenda **191**, 23 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über chronische Schwefelwasserstoffatmung an Hunden.

Von

Peter Moser.

(Eingegangen am 23. August 1940.)

I. Einleitung.

Während das Bild der akuten Schwefelwasserstoffvergiftung in Klinik und Pathologie bekannt ist und in der Literatur übereinstimmend geschildert wird, sind die Ansichten über eine chronische Vergiftung mit Schwefelwasserstoffgas geteilt. Die Ursache dieser Verschiedenheit liegt einerseits in dem Mangel an objektiven Beobachtungen und tierexperimentellen Studien, andererseits an der schwierigen Definition der „chronischen Vergiftung" schlechthin.

Eine chronische Vergiftung kann dadurch zustande kommen, daß kleine Dosen des Giftes längere Zeit hindurch in den Körper gelangen, bis sie sich zu einer plötzlich wirksam werdenden toxischen Dosis summiert haben, oder daß kleine Mengen des Giftstoffes jeweilig geringgradige, aber schwer reversible Veränderungen an den Organen setzen, die, sobald sie einen bestimmten (beträchtlichen) Grad erreicht haben, sich als Krankheit manifestieren. Da man diese Giftwirkung in den meisten Fällen in Form von wenig eindrucksvollen Befunden und subjektiven Angaben abschätzen muß, bleibt es dem Beurteiler überlassen, ob er von chronisch sich auswirkender Gesundheitsstörung oder von chronischer Vergiftung überzeugt ist.

Von einer chronischen Vergiftung kann man reden, wenn die Einwirkungszeit eines bekannten nachweisbaren Giftstoffes eine fortlaufende ist oder wenn die Einwirkung längere Zeit in regelmäßigen Zeitabständen erfolgt, die gleichbedeutend ist mit einer Reihe aufeinanderfolgender akuter Vergiftungen geringen Grades. In beiden Fällen ist der Nachweis einer darüber hinausgehenden Wirkung auf den Allgemeinzustand zu erbringen.

Neuere Beobachtungen und Veröffentlichungen über chronische Schwefelwasserstoffvergiftung stammen aus der Gewerbemedizin; sie tragen einen vorwiegend klinischen Charakter. Da es sich hierbei in den meisten Fällen nicht um das alleinige Vorkommen von H_2S handelt, hat man grundsätzlich zwischen der reinen Schwefelwasserstoffvergiftung und der „Mischvergiftung" zu unterscheiden, bei welcher H_2S in wechselnder Konzentration im Gemisch mit anderen Gasen einwirkt. Reine Spekulation

ist dabei die Annahme einer „Veränderung" der Schwefelwasserstoffwirkung (Toxizität) bei gleichzeitiger Einatmung anderer Gase. Im folgenden soll uns nur die alleinige Wirkung von Schwefelwasserstoff interessieren.

Bei Durchsicht der älteren Literatur finden sich fast nur Hinweise auf die akute und subacute Vergiftung mit Schwefelwasserstoff (1, 11, 19). Dabei handelt es sich meistens um Vergiftungsfälle von Personen, die in Schächten und Gruben arbeiteten, in denen organisches Material faulte. Dessen schwefelhaltige Anteile produzierten 2,5—8 % Schwefelwasserstoff, einen sehr hohen Prozentsatz neben den sonstigen Gasen Kohlensäure, Kohlenoxyd, Ammoniakgas, Methan usw. (15). Besonders in Frankreich war diese Form der Vergiftung, die als Zeichen für ihre Schwere und die hohe Giftkonzentration als erstes das Zentralnervensystem beteiligt, unter dem Namen „coup de plomb" bei den Arbeitern in Kloaken, Abwässerkanälen, Senkgruben gut bekannt. Die gleichen Vergiftungen sind in der deutschen Literatur mit gehäuftem Auftreten in bestimmten Gewerbebetrieben beschrieben, so besonders bei Arbeiten in den Gärteichen der Papierfabriken, deren Abwässer bei p_H über 7 Methan, bei p_H unter 7 Schwefelwasserstoff produzieren, ebenso in den Lohegruben der Gerbereien, wo bis zu 13 % (!) Schwefelwasserstoff vorhanden sein soll (15, 18), bei der Verarbeitung von faulendem Material in der Leimfabrikation, in Cyanfabriken, häufig auch, wenn bei Caissonarbeit in gärenden Schlämmen gearbeitet werden muß.

An allen diesen Stellen ist die Gelegenheit zu einer chronischen Einwirkung des Giftes ebenso gegeben. Sie ist jedoch nach der Literatur häufiger in Betrieben, wo mit einer Gifteinwirkung schon gerechnet wird und Vorkehrungen dagegen getroffen wurden: So besonders beim Arbeiten in chemischen und technischen Laboratorien; bei der Reinigung der Schwefelsäure von Metallen, bei der Fabrikation der Sulfide, bei der Aufarbeitung der Gaswässer aus schwefelhaltiger Kohle, bei der Herstellung bestimmter Farben, von denen das Ultramarinblau am bekanntesten ist u. a. m.

Die Vergiftungsgelegenheit ist meist eine Folge von Betriebsstörungen, wie Verstopfung von Abfluß- oder Abzugkanälen, schlecht schließenden oder offenstehenden Hähnen oder ein Versagen der Ventilation.

Besondere Aufmerksamkeit schenkte man in letzter Zeit den zahlreichen Schäden, die sich in der Viscoseindustrie unter mannigfachen klinischen Symptomen gezeigt haben und für welche man in erster Linie den Schwefelwasserstoff verantwortlich gemacht hat. Beim Eintritt der Viscose in das warme Fällbad wird Trithiocarbonsäure frei, die in CS_2 und H_2S zerfällt; dieser kann trotz ausgiebiger Ventilation in toxischen Konzentrationen in der Atemluft nachgewiesen werden. Die Vergiftung ist als komplexes Krankheitsbild unter dem Namen „Spinnerkrankheit" bekannt und zeigt in ihren Initialsymptomen Magendarmerscheinungen und Reizerscheinungen an den Schleimhäuten, besonders auch der Augenbindehaut (15).

Die Wirkung des Schwefelwasserstoffs setzt sich zusammen aus einer Reiz- und einer Resorptivwirkung. Die Resorptivwirkung, die sich in der Literatur bei den akuten und subakuten Vergiftungen findet, besteht in einer Vergiftung der nervösen Substanz, die unter Benommenheit, Brechreiz, Krämpfen in kurzer Zeit zum Tode führt. Die mehr subakute Form zeigt als wesentliche Symptome Darmkoliken, Diarrhoen, Husten, Speichelfluß, Erbrechen und als Todesursache ein hochgradiges Lungenödem. Die chronische Einwirkung hat als hauptsächlichsten Befund eine Entzündung der Augenbindehaut, sowie katarrhalische Erscheinungen im Bereich der Respirationswege, mitunter ekzematöse Hautveränderungen (6, 9, 14, 15, 23). Von anderen Autoren wird dem H_2S noch eine Wirkung

auf den Kreislauf, insbesondere auf das Herz zugeschrieben, die sich klinisch in Form einer Bradycardie mit Dilatation des Herzens, sowie subjektiv in Herzstichen und Beklemmungsgefühl kundtut (17). Ebenso wird die Häufigkeit von Magen-Darmerkrankungen im Kunstseidebetrieb gegenüber anderen Textilbetrieben der Einwirkung des Schwefelwasserstoffs zugeschrieben (8).

Mishenin und Tsitovitch verfütterten H_2S-haltige Nahrung und wollten eine organotrope Wirkung des Gases in Form einer Anämie mit Retikulocytose, Erhöhung der Resistenz der roten Blutzellen und Auftreten jugendlicher Erythrocyten gesehen haben. Ihre Befunde sind jedoch bisher noch nicht nachgeprüft und bestätigt worden (25).

Die Dosen, die beim Menschen eine gerade noch erkennbare Einwirkung des Gases hinterlassen, liegen nach Angaben von K. B. Lehmann (19) ungefähr zwischen 0,1 und 0,15 mg/Liter, wobei dieser Autor jedoch angibt, daß Konzentrationen von 0,12—0,18 mg H_2S pro Liter 6 Stunden ohne wesentliche Symptome ertragen wurden. Henderson und Haggard (10, 13) sahen bei einer Konzentration von 0,14—0,21 mg H_2S/Liter „leichte Erscheinungen nach einigen Stunden". Eine Konzentration von 0,28—0,42 mg/Liter war 1 Stunde ohne ernste Störungen erträglich.

Die bisher vorliegenden experimentellen Studien an Tieren, die an mehreren Tierarten gewonnen wurden, sind in ihrer Anordnung eher einer kürzer oder länger dauernden „Belastung" gleichzusetzen. So schreibt Flury (10), daß weiße Mäuse eine Einwirkung von 0,01% entsprechend 0,15 mg/Liter H_2S über einen Zeitraum von 12 Stunden ohne ernstere Folgen überlebten. K. B. Lehmann fand eine deutliche Reizwirkung auf die Augenbindehaut und den Respirationstraktus bei Katzen nach mehrstündiger Einwirkung einer Konzentration von 0,014% entsprechend 0,19 mg/Liter. Die über einen längeren Zeitraum von 3 Wochen sich erstreckenden Tierversuche von Weise ergaben auf der Cornea des Kaninchens Eruptionen mit kollateraler Entzündung bei einer H_2S-Konzentration von 0,01% entsprechend 0,15 mg/Liter (8).

Aus den verschiedenen Angaben über die untere wirksame Dosis geht hervor, daß eine Konzentration von 0,01% Schwefelwasserstoffgas in der Luft eine Reizwirkung bei Versuchstieren hervorruft. Diese Dosis entspricht einem gut merklichen Geruch des Schwefelwasserstoffs in der Außenluft. Bleiacetatpapier wird nach Einbringen in eine Schwefelwasserstoffatmosphäre gleicher Konzentration (12) nach einigen Sekunden deutlich braun bis schwarz.

II. Eigene Versuche.

Als Versuchstiere dienten mir Hunde, die neben Katzen als die gegen Schwefelwasserstoff empfindlichsten Laboratoriumstiere anzusehen sind [Flury-Zernik (10)]. Sie wurden einmal täglich mit einem gleichmäßigen Gemisch aus gekochtem Brot, Roggenschrot und etwas Fleisch gefüttert und waren vor Versuchsbeginn an ihre Umgebung gewöhnt.

Die Hunde wurden täglich durchschnittlich 7 Stunden einem möglichst konstant gehaltenen Schwefelwasserstoffstrom in einer Gaskammer von

8 cbm Inhalt ausgesetzt. In der Zwischenzeit befanden sie sich im Auslauf oder im Zwinger.

Um die Schwefelwasserstoffkonzentration in der Gaskammer möglichst konstant zu halten, wurde die Kammer mit einem Luftstrom durchströmt, der von einem Gebläse mit 8 cbm/Stunde gleichmäßig erzeugt wurde und demnach den Kammerinhalt in der Stunde einmal erneuerte. Diesem Frischluftstrom wurde kurz vor der Einmündung in die Kammer das Gas zugesetzt, dessen Vermischung in der Kammer durch einen Ventilator garantiert wurde. Die Messung der Gasströme erfolgte mit Rotamessern. Der verwendete Schwefelwasserstoff wurde in zwei zusammengeschalteten Kippschen Apparaten unter Verwendung von Eisensulfid und Salzsäure sowie Kupfersulfat als Katalysator erzeugt und in einen Gasometer gesaugt. Aus diesem wurde das Gas durch verdünnte Salzsäure verdrängt, die aus einer Mariotteschen Flasche von oben einlief und einen konstanten Druck beim Ausströmen sicherte. Vor Eintritt in die Gaskammer passierte das Gas einen Turm mit Calciumchlorid pur. sicc. und den Rotamesser, dessen Spindel in der Höhe geeichter Marken stand.

Die in Abständen vorgenommene Analysenkontrolle ergab an verschiedenen Entnahmestellen stets übereinstimmende Resultate. Nur direkt an der Einströmöffnung war die H_2S-Konzentration stärker. Zur Ermittlung der Schwefelwasserstoffkonzentration wurden 10 Liter Gasgemisch der Kammer durch bestimmte Mengen $^1/_{100}$ n Jodlösung (1,269 g Jod in 4 g Jodkalium pro Liter H_2O) durchgesaugt und der Jodverbrauch gegen arsenige Säure (0,495 g As_2O_3 pro Liter H_2O) titriert. Dampfförmig mitgerissenes Jod wurde in dahinter geschalteten Proben der Lösung von arseniger Säure aufgefangen und die darin ermittelte Jodmenge von dem Gesamtverbrauch in der Hauptvorlage abgezogen.

Eine Messung der Wasserdampfspannung wurde unterlassen. Die Ergebnisse über eine höhere Toxizität des Schwefelwasserstoffs bei feuchter oder trockener Atmosphäre sind in der Literatur widerspruchsvoll (24).

Als Kriterien einer etwaigen chronischen Vergiftung bzw. einer resorptiven Giftwirkung wurden das Körpergewicht und das Blut fortlaufend kontrolliert.

Die Untersuchungen des Blutes wurden mit bekannten klinischen Methoden ausgeführt. Die Untersuchung der osmotischen Resistenz der Erythrocyten geschah mit der modifizierten Methode nach Ribierre. Je 2 ccm Kochsalzlösung (fallende Konzentrationen mit je 0,02 % Unterschied) wurden mit 20 cmm Blut, das durch Schütteln defibriniert und durch Gaze filtriert war, in einem Zentrifugenglas leicht geschüttelt und nach halbstündigem Stehen bei Zimmertemperatur scharf zentrifugiert. Die Werte, bei welchen gerade Hämolyse eintrat (Minimumresistenz) und diejenigen, bei welchen völlige Hämolyse bestand (Maximumresistenz), wurden notiert; außerdem noch ein Mittelwert, der bei Rosafärbung des Zentrifugenglaschens angenommen wurde. Die Normalwerte betrugen durchschnittlich:

Minimumresistenz: 56 % NaCl,
Maximumresistenz: 40—42 % NaCl,
Mittelwert: 52 % NaCl.

Zur Erzielung brauchbarer Resultate ist sorgfältige Technik notwendig, ebenso darf die Außentemperatur 25—27° C nicht überschreiten.

Die Erythrocyten wurden in der Bürkerschen Kammer unter Verwendung von Hayemscher Lösung als Verdünnungsflüssigkeit gezählt. Die Normalwerte liegen bei Hunden zwischen 5 und 6 Millionen/cmm. Die Leukocyten wurden in 3%iger Essigsäure mit Methylenblauzusatz gezählt. Die stark schwankenden Normalwerte betrugen zwischen 6000 und 12000 weißen Zellen/cmm. Die Daten stimmen mit den von Bertram (27) gefundenen Zahlen überein. Das Differentialblutbild wurde mit Jenner-May-Grünwald-Lösung und Giemsa-Lösung (kombinierte Methode nach Pappenheim) gefärbt. Die Reticulocyten wurden gezählt nach Vorbehandlung des Blutausstriches mit 2%iger alkoholischer Brillantkresylblaulösung und 20 Minuten Verweildauer in der feuchten Kammer. Das Hämoglobin wurde als reduziertes Hämoglobin im Hämometer nach Bürker bestimmt. Übereinstimmende Resultate ergaben sich bei der Kontrolle mit der Sahlischen Hämatinmethode und bei der Bestimmung als reduziertes Hb in dem „Weka"-Photozellenkolorimeter nach Havemann. Die Blutuntersuchungen wurden jeweils vor der Fütterung der Tiere und vor dem Einbringen in die Gaskammer vorgenommen.

Die Vergiftungen fanden in einem Zeitraum von 12 Wochen in der Zeit vom 15. Mai bis 15. August 1939 statt.

Zunächst wurden zwei Hunde (O und R) bei einer Gaskonzentration vergiftet, die unter den bei Lehmann und Henderson-Haggard (10) für längere Einwirkungsdauer gerade toxisch befundenen Schwefelwasserstoffmengen lag, um die untere Grenze der Empfindlichkeit festzustellen. Die H_2S-Konzentration betrug 0,001 % entsprechend 0,014 mg/Liter. Bleiacetatpapier wurde auch bei dieser Konzentration nach einigen Sekunden schwarzbraun. Die Kammerluft roch merklich nach faulen Eiern.

Während 14 Tagen zeigten die Hunde keine Anzeichen einer Giftwirkung. Ein Hund hatte nach einigen Tagen ab und zu etwas Husten. Beide Hunde tranken kurze Zeit nach der Gifteinwirkung reichliche Mengen Flüssigkeit. Die Tagesfreßration war am anderen Morgen immer leer, trotzdem die Hunde nach dem Auslassen aus der Kammer zuerst nicht ans Fressen heranwollten. Vor dem Einbringen in die Gaskammer am nächsten Morgen waren die Hunde jedoch immer sehr lebhaft und in keiner Weise „krank". Eine Veränderung im Blutbild und im Körpergewicht war nicht festzustellen.

Mitte Juni wurde die Konzentration erhöht und zwei weitere Hunde (A und B) zugegeben.

Die in Abständen vorgenommenen Analysen des Gasgemisches ergaben meist Werte zwischen 0,009 und 0,011 % H_2S, entsprechend 0,13 bis 0,15 mg/Liter im Mittel. Niedrigster Wert war 0,006 %, höchster Wert 0,015 % Schwefelwasserstoff.

Bei dieser Gaskonzentration stellte sich schon nach einigen Tagen heraus, daß die Hunde nicht mehr so lebhaft waren. In der Gaskammer bellten sie überhaupt nicht mehr, sondern sie lagen ruhig herum, begannen des öfteren zu gähnen und hatten eine Art Brechreiz. Nach der Herausnahme aus der Gaskammer tranken sie jedesmal erhebliche Mengen Flüssigkeit, fraßen schlechter und wechselnde Mengen. Während der folgenden

Wochen änderte sich dieses Bild im großen und ganzen nicht. Alle Hunde bekamen einen Reizhusten und eine vermehrte Sekretion der Tränendrüsen, die mit leichten Verklebungen der Lider einherging. Besonders Hund B zeigte eine mäßig starke konjunktivale Injektion mit reichlicher Sekretabsonderung. Die Untersuchung der Konjunktiva ergab keinen Befund im Sinne einer Kerato-Konjunktivitis. Doch muß bemerkt werden, daß keine Spaltlampenuntersuchung stattfand. Alle Hunde zeigten weiterhin einen „Schnupfen", der zum großen Teil mit schuld war an der rauhen und ziehenden Atmung. Die stärksten Husten- und Atembeschwerden zeigten die Hunde, wie dies auch schon von Flury (10) betont wurde, kurz nach dem Herauslassen aus der Gaskammer. Häufig fand dabei auch Würgen und Schleimerbrechen statt.

Während der ganzen Dauer der Versuche verschwanden diese Symptome bei allen Hunden nach kurzer Zeit, so daß am nächsten Morgen ein Krankheitsbefund in der eben beschriebenen Art nicht mehr zu erheben war.

Die fortlaufend durchgeführten Untersuchungen des Blutes ergaben außer geringfügigen Schwankungen in den Blutzellzahlen und im Hämoglobin keine wesentlichen Veränderungen. Die wechselnden Leukocytenzahlen dürften wohl mit dem Reizzustand an den Schleimhäuten zusammenhängen, ergaben aber nie plötzliche Schwankungen erheblichen Grades, noch eine dauernde Tendenz zur Vermehrung oder Verminderung. Im Differentialblutbild gab es geringe Schwankungen zwischen den Segmentkernigen und den Lymphocyten. Bei den letzteren war gegen Ende der ganzen Versuche eine geringe Vermehrung auf Kosten der Segmentkernigen festzustellen. Die Form der Segmentkernigen, die gegenüber dem menschlichen Blutbild physiologisch eine Übersegmentierung aufweisen, änderte sich nicht. Pathologische Granulationen oder Vakuolenbildungen waren nicht zu sehen. Im roten Blutbild fehlten die Zeichen für eine hyper- oder hypochrome Anämie. Auch Schwankungen der Erythrocytenbildung, gemessen an den Reticulocyten, waren nicht nachzuweisen. Pathologische Einlagerungen (Auftreten von Jolly- oder Heinz-Körpern, basophiler Punktierung) wurden nicht gesehen. Zeichen für eine Veränderung der osmotischen Resistenz fehlten. Der Mittelwert der Resistenzbestimmung bewegte sich zwischen 0,48 und 0,54 % NaCl. Einer geringen Anisocytose wird keine Bedeutung beigemessen, da diese auch im normalen Blutbild des Hundes eine häufige Erscheinung ist und auch durch kleine Abweichungen im Ausstrich vorgetäuscht werden kann.

Das Körpergewicht der Hunde war am Ende des Versuchs das gleiche wie am Anfang. Bei Hund O und Hund R war im Laufe der Versuchsdauer vorübergehend ein Absinken des Körpergewichts von 16,7 auf 15,5 kg bzw. von 20,0 auf 17,8 kg festzustellen gewesen. Während Hund O zu dieser Zeit einen diarrhöischen Stuhl auf die Dauer von zwei Tagen hatte, war bei dem anderen keine wesentliche Änderung des „Befindens" eingetreten.

III. Besprechung der Ergebnisse.

Beim Überblicken der Versuchsergebnisse stellt sich also im wesentlichen heraus, daß der Schwefelwasserstoff in der gewählten Dosierung nur Reizerscheinungen setzt. Davon ist in erster Linie der Respirationstraktus betroffen. Denn es zeigten sich bei allen Tieren die Erscheinungen einer Rhinitis mit zum Teil erheblicher Sekretion eines gelben eitrigen Nasensekretes, sowie eine Alteration der Atemwege, die sich in Husten, Heiserkeit und in rauhem, erschwertem Atmen kundtat. Ebenso war bei allen Tieren eine vermehrte Sekretion der Liddrüsen festzustellen, bei zwei Tieren sogar eine ausgeprägte Konjunktivitis. Die Verdauung war bei den meisten Tieren nicht regelmäßig. Ein Hund hatte sogar zeitweise diarrhöische Stühle, wobei eine andere Ursache (etwa Würmer oder Freßfehler) nicht ermittelt werden konnte.

Diese Feststellung deckt sich mit der bekannten Tatsache der Konjunktivitis und Tracheo-Bronchitis der Arbeiter in Betrieben, in denen Schwefelwasserstoffgas im Arbeitsraum nachgewiesen werden kann. Wir haben die gleichen klinischen Erscheinungen, wie sie die Gewerbemedizin u. a. bei der sogenannten „Spinnerkrankheit" der in der Viscose-Industrie arbeitenden Menschen beschreibt. Banik (22) berichtet über Augenerkrankungen durch H_2S in den Rübenzuckerfabriken, die klinisch keine sehr schweren Erscheinungen machten, aber jedesmal bei den dafür empfindlichen Personen sofort auftraten, wenn diese wieder der Schwefelwasserstoffatmosphäre ausgesetzt waren. Auch wir konnten bei den Hunden keine sehr schweren Krankheitszeichen beobachten, vielmehr deren baldige Besserung, aber sofort erneutes Auftreten der katarrhalischen Reizung im Gasraum. Die gleichen Beobachtungen beschrieb Gutmann (6) bei den Kunstseidearbeitern schon bei Konzentrationen wie 0,01 % Schwefelwasserstoffgas in der Außenluft. Die von diesem Autor angenommene sich steigernde Überempfindlichkeit gegen die Gaseinwirkung konnten wir nicht beobachten. Katarrhe des Nasenrachenraumes am Menschen beschrieb u. a. besonders Rodenacker (2, 3) und deutete sie als Reizfolge auf die H_2S-Einwirkung. Sie standen bei den Hunden ganz im Vordergrund der Veränderungen.

Die bei zwei Hunden beobachteten Magen-Darm-Erscheinungen (unregelmäßige Verdauung und Durchfälle) möchte ich doch auf die Gifteinwirkung beziehen und sie den in der Literatur beschriebenen Magen-Darmstörungen besonders der Kunstseidearbeiter an die Seite stellen.

Alle diese katarrhalischen Erscheinungen sind auf die Vergiftung zurückzuführen, doch waren die beschriebenen Symptome nicht von einer derartigen Heftigkeit, daß sie eine Reaktion im Blutbild hervorrufen konnten; auch war die Gaseinwirkung nicht so nachhaltig, daß sich eine erhebliche chronische Entzündung entwickelte.

Auch die dauernd einwirkende Schädlichkeit an sich war nicht imstande, eine Veränderung im Blutbild zu erreichen bzw. den Allgemeinzustand wesentlich zu verändern. Aus dieser Tatsache schließe ich, daß der eingeatmete Schwefelwasserstoff vom Organismus rasch oxydiert wird. Eine Giftwirkung würde sich wohl auch im Blut in der Bildung fehlerhafter Zellen oder in einer Veränderung der Zellzahl ausdrücken. Eine Summierung der Schädigung findet also nicht statt.

In der neueren Literatur ist die Vermutung aufgetaucht, daß der Schwefelwasserstoff als Fermentgift wirke und dadurch bei höherer Konzentration die der Blausäurevergiftung ähnliche Erstickung herbeiführe. Bei meinen geringen Konzentrationen hatte ich dafür keine Anhaltspunkte.

Einer der Hunde (O) wurde eines Morgens nach Versuchsbeginn tot im Zwinger gefunden. Bei der Sektion ergab sich als Todesursache ein hochgradiges Lungenödem, das über beide Lungen gleichmäßig und auch in allen Lappen gleich stark ausgeprägt war. Daneben bestand eine akute Blutfülle in der Lunge und in allen Organen. Es fanden sich Zeichen einer chronischen Tracheitis. Die Leber war eher weich, von mittlerer Konsistenz und gelbbrauner Farbe, auf der Schnittfläche feucht und blutreich von etwas verwaschener Läppchenzeichnung. Ich teile diese Tatsachen mit, weil in der Literatur (7, 19) als Todesursache der subakuten Vergiftung mit H_2S fast ausschließlich ein Lungenödem gefunden worden ist; ob es sich auch in diesem Falle um eine Vergiftungsfolge handelte, möchte ich dahingestellt sein lassen. Der Hund bot sonst gegenüber dem Verhalten in den vorhergehenden Tagen keinerlei Besonderheiten.

Seit längerer Zeit sind Beziehungen des Schwefelwasserstoffs zur Bildung grüner Blutfarbstoffderivate (sogenannten „Sulfhämoglobins") bekannt; in einer kürzlich veröffentlichten Abhandlung hat Jung (24) den Stand unseres heutigen Wissens darüber dargelegt und neue Untersuchungen mitgeteilt. Bei der spektroskopischen Untersuchung des Blutes meiner chronisch mit H_2S vergifteten Hunde konnte nie eine Absorptionsbande im roten Teil des Spektrums gefunden werden. Selbst wenn der chemische Nachweis des Schwefelwasserstoffs im Blute zuverlässiger ist als der spektroskopische, so ist letzterer nach E. Meyer (7) doch bei erheblicher Vergiftung deutlich und bei Vergiftung mit Todesfolge regelmäßig vorhanden. Bei chronischer Applikation der geringen Mengen von 0,13—0,15 mg/Liter habe ich „Sulfhämoglobin" spektroskopisch nicht nachweisen können.

Die in der Literatur widerspruchsvoll beantwortete Frage, ob sich bei der chronischen Vergiftung mit Schwefelwasserstoff eine Gewöhnung oder eine Überempfindlichkeit herausbildet, ist bei meinen Versuchen an Hunden dahingehend zu entscheiden, daß weder das eine noch das andere deutlich zu beobachten war. Im allgemeinen bestand der Eindruck, daß die Tiere sich an die Applikation des Gases eher gewöhnten. Dafür könnte man die Tatsache geltend machen, daß sich allmählich ein stationärer Zustand herausbildete, und daß es andererseits zu keiner Reaktion des blutbildenden Apparates kam. Diese Anschauung deckt sich mit derjenigen Rodenackers, der schreibt: „Es bleibt keine gesteigerte Empfindlichkeit zurück, es tritt aber auch keine Gewöhnung an den Schwefelwasserstoff

ein" — und an anderer Stelle: „Es war weder eine Gewöhnung noch eine gesteigerte Empfindlichkeit zu erkennen (3)".

In einer neueren Arbeit von Martini (26) ist die Wirkung chronischer oraler Schwefelgaben auf den Organismus erneut behandelt. Wie wir durch Heffter wissen, wandelt sich der Schwefel unter den Bedingungen des Organismus partiell in Schwefelwasserstoff um. Insofern handelt es sich also auch um eine chronische Schwefelwasserstoffwirkung. Martini prüfte auf sogenannte klinische Schwefelsymptome und untersuchte u. a. auch das Blutbild. Das Resultat war ein durchaus negatives. Eine Wirkung wurde im Gegensatz zu früheren Autoren nicht beobachtet.

Zusammenfassung.

Bei täglich wiederholter 7stündiger Einatmung einer Schwefelwasserstoffkonzentration von 0,01% entsprechend 0,15 mg/Liter zeigten sich während einer Vergiftungsdauer von 2 Monaten an Hunden Reizerscheinungen an den Schleimhäuten, die sich regelmäßig wiederholten, aber keinerlei Zeichen für eine chronische Vergiftung.

Literatur.

1) Zangger, H.: Handb. Inn. Med. **4**, II, S. 1624, Die anorganischen Gifte. — 2) Rodenacker: Zbl. Gewerbehyg. (N. F.) **3**, 20 (1926). — 3) Rodenacker: Ebenda **4**, 205, 372 (1927). — 4) Basch, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **111**, 126 (1926). — 5) Hijmans v. d. Bergh u. Engelkes: Klin. Wschr. **1922**, S. 1932. — 6) Gutmann: Dtsch. med. Wschr. **1928**, S. 1422. — 7) Meyer, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **41**, 726 (1898). — 8) Weise, W.: Arch. Gewerbepath. **4**, 219 (1933). — 9) Jaensch, P. A.: Ebenda **1**, 397 (1930). — 10) Flury u. Zernik: Schädliche Gase 1931, S. 131ff. — 11) Lehmann, K. B.: Arch. Hyg. (D.) **14**, 135 (1892). — 12) Smolzcyk u. Cobler: Gasmaske II, S. 27 (1927). — 13) Henderson u. Haggard: Amer. J. Physiol. **41**, 289 (1922). — 14) Meyer, Aug.: Samml. v. Vergiftungsfällen **7**, B 31 (1936). — 15) Lange, R.: Ebenda **6**, A 233 (1935). — 16) Fischer u. Starkenstein: Ebenda **3**, B 27 (1932). — 17) Hertz, A.: Ebenda **3**, A 277 (1932). — 18) Reuter-Lieb-Weyrich: Gifte und Vergiftungen in der gerichtlichen Medizin 1938. — 19) Lehmann, K. B.: Arch. Hyg. (D.) **17**, 332 (1893); **30**, 262 (1897); **34**, 272 (1899). — 20) Rosenthal u. Kaufmann: Arch. Anat. u. Physiol. (Dubois-Reichert) **1865**, S. 659. — 21) Binet: Rev. med. Suisse rom. **1896**, S. 13. — 22) Banik: Zbl. Gewerbehyg. (N. F.) **9**, 121 (1932). — 23) Hartmann, Karl: Klin. Mbl. Augenhk. **99**, 456 (1937). — 24) Di Bella, Luigi: Arch. di Fisiol. **37**, 291 (1937). — 25) Mishenin u. Tsitovitch: Fiziol. Ž. **22**, 432 (1937). — 26) Martini: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 425 (1939). — 27) Bertram: Inaug.-Dissertation, Berlin 1938. Das Blutbild bei Arsenwasserstoffvergiftung an Hunden. — Weitere Literatur bei Henderson u. Haggard: Noxious Gases, 1927, und der deutschen Bearbeitung von Flury u. Zernik: Schädliche Gase, 1931.

Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Arbeitsphysiologie Dortmund-Münster.

Die quantitative Auswertung der Wirkung des Veritols auf die Herzdynamik.

Von

E. A. Müller.

Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Juli 1940.)

Eine Besserung der Herzfunktion durch Veritol ist für das Froschherz zuerst von Biehler (1), für das Säugetierherz zuerst von Rein (2) beschrieben worden. Rein registrierte nicht direkt das Herzvolumen, konnte aber indirekt eine erhebliche Herzvolumenabnahme errechnen, wenn auf das Herz-Lungenpräparat von 8—16 kg-Hunden 0,5—2,0 mg Veritol gegeben wurden. Von Mügge (3), von Eichler (4), von Lindner (5) und von Zipf (6) wurde diese Besserung der Herzfunktion bestätigt. Eine direkte Aufzeichnung des Herzvolumens im Herz-Lungenpräparat unter Veritol wurde zuerst von Kiese, Garan und Krautwald (7) vorgenommen. Dosen von 0,05—1,0 mg erhöhten die Frequenz und verkleinerten das insuffiziente Herz. Dosen unter 0,1 mg wirkten dabei nur wenig. In gleicher Weise prüften Gollwitzer-Meier und Kroetz (8) Dosen von 1—2 mg am Herz-Lungenpräparat. Sie publizieren eine Kurve mit einer Volumenverkleinerung von 11 ccm. Sie vermißten ebenso wie Rein eine regelmäßige und größere Pulswirkung.

Ausgangspunkt eigener systematischer Versuche war die gelegentliche Beobachtung, daß schon nach Bruchteilen der von den zitierten Autoren im Herz-Lungenpräparat gegebenen Dosen eine erhebliche und langdauernde Zunahme der Kontraktionsfähigkeit des Herzens auftrat, die stets von einer ebenfalls starken und anhaltenden Frequenzzunahme begleitet war. Es wurde rein statistisch das Verhältnis von Dosis und Zunahme der Kontraktionsfähigkeit geprüft. Das Ergebnis wurde mit der früher beschriebenen entsprechenden Wirkung von Tyramin [E. A. Müller (9)] verglichen. Die Wirkung auf die Herzdynamik wurde in ihren Komponenten analysiert. Weiter wurde mit einer neuen quantitativen Vergleichsmethode untersucht, ob Wirkungsverschiedenheiten zwischen den einzelnen Salzen und Isomeren des Veritols nachweisbar sind.

Über die verwendete Anordnung des Herz-Lungenpräparates ist ausführlich früher (9) berichtet worden. In einem Teil der Versuche wurde die Kontraktionsfähigkeit des Herzens durch Glucose-Insulin-Dauerinfusion mit einer besonderen Infusionspumpe [E. A. Müller (10)] in der beschriebenen Weise [E. A. Müller (11)] hochgehalten. Diese Versuche

wurden nicht gesondert wiedergegeben, da sie keine abweichenden Resultate ergaben. Unter „Veritol" ist das racemische Veritolsulfat des Handels zu verstehen.

Abb. 1 gibt das typische Bild einer Veritolwirkung am Herzen. Das Herzvolumen nimmt erst rasch, dann langsamer ab und erreicht nach 5 Minuten einen konstanten Wert, der in 1—2 Stunden auf die Größe des Herzens vor der Veritolgabe wieder zurückgeht. Wir sehen gleichzeitig den Anstieg des Pulses, der auch auf dem neuen Niveau konstant bleibt, und das Absinken des linken Vorhofdruckes. Blutdruck und Minutenvolumen waren künstlich konstant gehalten.

Bei der Untersuchung des Tyramins konnte gezeigt werden, daß die Volumenabnahme eine Funktion des Herzausgangsvolumens ist; sie ist

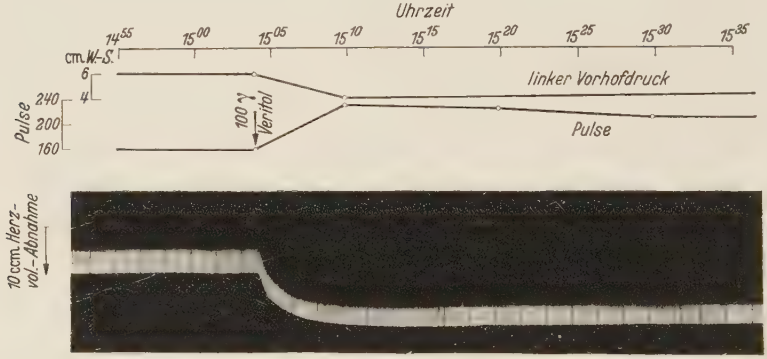


Abb. 1. Herz-Lungenpräparat. Hund, 8,0 kg, Herzgewicht 73 g. Blutdruck: 100 cm W.-S., Minutenvolumen 250 ccm, Dauerinfusion von 0,01 g/Min. Glucose und 0,01 Einh. Insulin in der Minute.

um so größer bei gegebener Dosis, je größer das Herz ist, unabhängig davon, ob die Herzvergrößerung aus inneren Ursachen — durch eine Abnahme der Kontraktionsfähigkeit — oder aus äußeren Ursachen — durch eine Erhöhung des Aortendruckes — hervorgerufen war. Das gleiche Verhalten ließ sich für das Veritol nachweisen (Tabelle 1).

Tabelle 1.

Herzgewichte g	Veritol γ/g Herz	Diastolisches Volumen vor der Veritolgabe ccm	Herzvolumenabnahme ccm	
47	0,4	x	5,0	Zunahme des diastolischen Volumens infolge Abnahme der Kontraktionsfähigkeit
	0,4	$x + 7{,}5$	7,5	
67	0,4	y	11,5	Abnahme des diastolischen Volumens infolge Aortendrucksenkung von 100 auf 60 cm W.-S.
	0,4	$y - 13{,}0$	8,0	

Tabelle 2.

Dosis γ/g Herz:	0,13—0,17		0,21—0,33		0,35—0,45		0,58—0,64		0,83		1,16—1,47		2,0	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Einzelwerte:	1,5	8,8	2,5	10,9	3,0	7,1	7,5	11,9	8,3	10,0	32,0	21,8	10,7	5,4
	0,8	5,3	9,0	42,8	5,0	11,6	4,5	7,1			8,9	6,1		
	4,5	34,6	3,3	15,0	7,5	17,5	4,0	6,9			6,9	5,9		
	3,5	23,2	4,6	15,3	11,5	25,6	11,5	18,0						
			3,4	11,7	8,0	17,8								
			4,0	16,0	17,0	48,6								
			2,0	8,0	8,0	20,0								
			1,9	6,6	4,0	10,0								
			3,6	14,4	8,5	20,2								
			2,4	9,6	11,3	26,3								
			5,0	20,8	8,8	22,0								
			3,1	14,1										
			9,7	29,4										
			17,0	51,6										
			9,7	29,4										
Mittelwerte:	2,6	18,0	5,4	19,7	8,4	20,6	6,9	11,0	8,3	10,0	15,9	11,3	10,7	5,4
Fehler ± %:	33		20		14		25							

a = Herzvolumenabnahme ccm je Dosis,
b = Herzvolumenabnahme ccm je γ/g Herz.

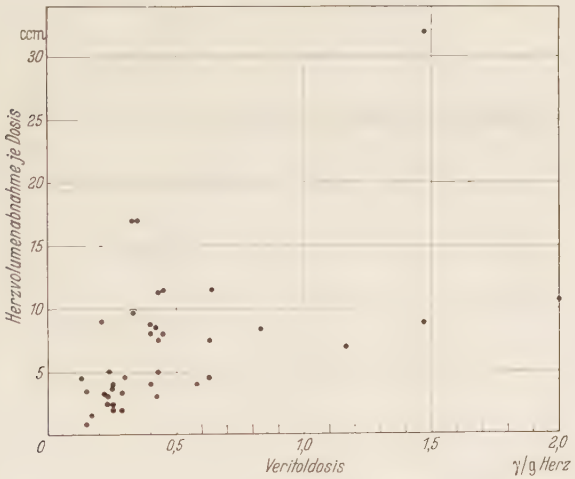


Abb. 2. Eine Abhängigkeit der Herzvolumenabnahme je Dosis von der Veritoldosis in γ/g Herz ist nicht erkennbar.

Prinzipiell ist es daher unmöglich, die Veritolwirkung in absoluten Maßstäben zu erfassen, wenn man nicht den jeweiligen Zustand des Herzens definiert. Ehe wir dies versuchen, wollen wir in einer Generaltabelle alle Dosen und Wirkungen des Veritols zusammenstellen (Tabelle 2). Es wurden dabei 26 Versuche verwertet, in denen Veritol mit wenigstens halbstündigen Abständen bis zu viermal in einem Versuch gegeben wurde. Um die durch verschieden große Herzgewichte bedingten Unterschiede auszuschalten,

wurden die Dosen in γ/g Herz berechnet. Im Kopf der Stäbe ist der jeweils zusammengefaßte Dosenbereich angegeben. Unter a findet sich die wirklich gemessene Volumenabnahme in ccm, unter b die daraus unter Annahme einer der Dosis proportionalen Volumenabnahme errechnete Volumenabnahme in ccm je γ/g Herz. Die untersuchten Dosen liegen zwischen 0,13 und 2,0 γ/g Herz. In der Mehrzahl der Versuche wurden Dosen von 0,13—0,45 γ g Herz gegeben. Die Volumenabnahme je Dosis ist in Abb. 2 als Funktion der Dosis dargestellt. Eine Ordnung ist in den Werten nicht zu erkennen. Auch umgerechnet auf eine Dosis von 1 γ/g Herz schwankt die Herzvolumenabnahme zwischen 6,6 und 51,6 ccm. Bildet man trotz dieser großen Schwankungen der Einzelwerte Mittelwerte für die Dosenbereiche 0,13—0,17, 0,21—0,33 und 0,35—0,45 γ/g Herz, so findet man Herzvolumenabnahmen je γ/g Herz, die 18, 20 und 21 ccm betragen. Der mittlere Fehler des Resultats errechnet sich zu etwa $\pm$ 20%. Im Mittel ist also die Wirkung zwischen Dosen von 0,13—0,45 γ/g Herz der Dosis proportional, wobei 1 γ Veritol je g Herz das Herzvolumen um 20 ccm ($\pm$ 4 ccm) verkleinert.

Geht man mit der Dosis höher, so bleibt die Herzvolumenabnahme je γ/g Herz mehr und mehr zurück, weil nur wenige Herzen soweit dilatiert sind oder soweit dilatieren können, daß Raum für die theoretisch erwartete Volumenabnahme vorhanden ist. Das ist trotz geringer Versuchszahl im Bereich der hohen Dosen aus Tabelle 2 zu ersehen. Daher erklärt es sich, daß Gollwitzer-Meier und Kroetz in der 40—80fachen Dosierung auch keine höhere absolute Volumenabnahme fanden als wir. Dosen zwischen 0,08 und 0,11 γ/g Herz waren wirkungslos. Die Wirkungsschwelle liegt also bei etwa 0,12 γ/g Herz.

In einer früheren Veröffentlichung [E. A. Müller (9)] konnte die Herzvolumenabnahme nach Tyramin zu durchschnittlich 10 ccm für 0,1 mg ermittelt werden. Da dabei das Durchschnittsgewicht der Herzen 70 g betrug, errechnet sich die Herzvolumenabnahme je γ/g Herz zu etwa 7 ccm oder $^1/_3$ der Veritolwirkung. Es wurden auch Versuche durchgeführt, in denen am gleichen Präparat die Dosen von Veritol und Tyramin gesucht wurden, die eine gleich starke Herzvolumenabnahme ergaben. In 8 Versuchen lag dabei die Veritolwirkung zwischen einer 1,5fachen und 4,5fachen Tyraminwirkung. Im Mittel wird man eine dreifache Wirkungsstärke des Veritols ansetzen dürfen. Die Wirkungsdauer ist gleichzeitig beim Veritol wenigstens achtmal länger als beim Tyramin.

In der Mehrzahl der Versuche der Tabelle 2 wurde zweimal Veritol gegeben. In Tabelle 3 sind die Versuche der Tabelle 2 mit Gaben zwischen 0,13—0,45 γ/g Herz nach 1. und 2. Gabe geordnet. Im Durchschnitt wurde die 2. Gabe 90 Minuten nach der 1. Gabe verabfolgt. Unter Berücksichtigung der hohen mittleren Fehler ist eine Wirkungsabnahme bei der 2. Gabe nach dieser Zwischenpause nicht zu erkennen. Das bestätigt die Auffassung von Zipf (6) und von Rietschel (12), daß eine „Tachyphylaxie"

Tabelle 3.

	1. Gabe	2. Gabe
Zahl der Versuche	16	8
Mittlere Volumenabnahme in ccm γ/g Herz	22,6	19,3
Mittlerer Fehler des Mittelwertes $\pm$ ccm	3,0	5,0

nicht zu beobachten ist, wenn man nicht überdosiert und das Abklingen der Reaktion der ersten Dosis abwartet.

Schließlich wurde untersucht, ob sich eine Abhängigkeit der Wirkung vom Alter des Herz-Lungenpräparats, d. h. vom zeitlichen Abstand zwischen der Isolierung des Herzens und der Gabe finden läßt. Tabelle 4 enthält alle Versuche der Tabelle 2 in dieser Ordnung.

Tabelle 4.

Zeit seit Isolierung des Herzens, Stunden:	0–3	3–6	6–9
Zahl der Versuche	21	14	4
Mittlere Volumenabnahme in ccm je γ/g Herz	20,8	15,1	9,8
Mittlerer Fehler des Mittelwertes $\pm$ ccm	2,9	2,3	2,9

Eine geringe Abnahme der Wirkung mit dem Alter des Präparates ist nach Tabelle 4 wahrscheinlich, wenn auch bei der Größe des mittleren Fehlers nicht sicher. Nach den grundlegenden Versuchen von Gremels(13) kann diese Wirkungsabnahme eines sympathicotropen Stoffes mit der Lebensdauer des Präparates als Folge des Ausfalls der Zuckerassimilation mangels Vagus-Insulinwirkung und eines resultierenden Verbrauchs der die sympathicotrope Wirkung vermittelnden Glykogenvorräte gedeutet werden.

Wir haben in den Versuchen der Tabelle 1 gesehen, daß mit Abnahme der Kontraktionsfähigkeit die Herzvolumenabnahme für eine bestimmte Dosis zunimmt. Wir können nun nicht von Versuch zu Versuch beurteilen, wieweit das Herz über seine physiologische systolische Größe hinaus, die nahe an 0 liegen dürfte, vergrößert ist. Wir wissen jedoch, daß die Volumenabnahme eine Funktion des diastolischen Volumens, das diastolische Volumen aber eine Funktion der Herzarbeit ist. Tragen wir für unsere Versuche die Herzarbeit in gcm/min · g Herz als Abszisse, die Volumenabnahme je γ/g Herz als Ordinate auf, so erhalten wir Abb. 3. Da keine Ordnung der einzelnen Punkte zu erkennen ist, müssen andere Faktoren maßgebend sein.

In einer zusammenfassenden Darstellung habe ich die Größe $\Delta V / \Delta P$ als geeignetes Maß zur Beurteilung der Kontraktionsfähigkeit des Herzens eingeführt [E. A. Müller (14)]. Sie sagt aus, wie stark das Herzvolumen V bei einer Zunahme des mittleren Aortendrucks P um 1 cm W.-S. an Volumen zunimmt. Beim physiologischen Herzen ist diese Zunahme sicherlich außerordentlich klein. Unter den besten experimentellen Bedingungen

wurde $\Delta V/\Delta P$ zu 0,05 bestimmt. Kurz vor dem Versagen des Herzens wurden Werte bis zu 0,7 gemessen.

Versuchen wir nun, die Veritolwirkung auf das Herzvolumen zu den in einer Reihe von Experimenten kurz vor der Veritolgabe gemessenen $\Delta V/\Delta P$-Werten in Beziehung zu setzen, so erwarten wir eine Zunahme der Wirkung mit zunehmendem $\Delta V/\Delta P$, weil ja das unter abnehmender Kontraktionsfähigkeit dilatierte Herz günstigere Wirkungsbedingungen schafft. In Abb. 4 ist die Volumenabnahme je γ/g Herz als Funktion des $\Delta V/\Delta P$-Wertes vor der Gabe dargestellt. Die erwartete Abhängigkeit von $\Delta V/\Delta P$ ist nicht vorhanden. Dieser Befund steht im Widerspruch zu den Angaben der Mehrzahl der Autoren, die eine verstärkte Wirkung am insuffizienten Herzen feststellte.

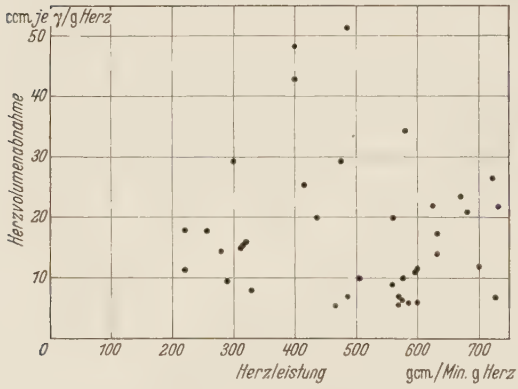


Abb. 3. Eine Abhängigkeit der Herzvolumenabnahme in ccm je γ/g Herz Veritol von der Herzleistung in gcm/Min. g Herz ist nicht zu erkennen.

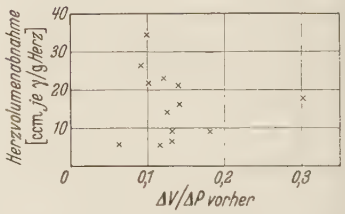


Abb. 4. Eine Abhängigkeit der Herzvolumenabnahme in ccm für 1 γ Veritol je g Herz von der Größe des Verhältnisses Herzvolumenänderung je cm Aortendruckänderung ($\Delta V/\Delta P$) vor der Gabe ist nicht erkennbar.

Es wurde weiterhin die Änderung des Wertes $\Delta V/\Delta P$ selbst nach einer einzelnen Veritolgabe untersucht. 9 Versuche sind in Tabelle 5 nach der Dosis geordnet zusammengestellt.

Änderungen um weniger als $\pm$ 0,01 liegen innerhalb der Meßfehler. Die Tabelle 5 zeigt, daß nur in 4 Fällen $\Delta V/\Delta P$ sich mehr als $\pm$ 0,01

Tabelle 5.

Dosis γ/g Herz	$\Delta V/\Delta P$ vor der Gabe	$\Delta V/\Delta P$ nach der Gabe	$\Delta V/\Delta P$ Änderung	$\frac{\Delta P/\Delta V \text{ nachher} \cdot 100}{\Delta P/\Delta V \text{ vorher}}$
0,13	0,10	0,07	— 0,03	143
0,15	0,12	0,11	— 0,01	109
0,17	0,13	0,12	— 0,01	108
0,25	0,14	0,13	— 0,01	108
0,25	0,18	0,19	+ 0,01	95
0,29	0,13	0,13	± 0	100
0,43	0,09	0,05	— 0,04	180
0,64	0,30	0,20	— 0,10	150
2,00	0,06	0,04	— 0,02	150

ändert. In 3 Fällen war dabei die Gabe größer als 0,4 γ/g Herz. $\Delta V/\Delta P$ reagiert also weit weniger empfindlich als das Herzvolumen. Der kleinste nach Veritol erreichte $\Delta V/\Delta P$-Wert betrug 0,04 und unterschreitet damit nicht den kleinsten im Herz-Lungenpräparat bisher gemessenen Wert [E. A. Müller (13)].

In 8 weiteren Versuchen wurden die $\Delta V/\Delta P$-Werte zu Versuchsbeginn und nach Verlauf von etwa 2 Stunden, in denen mehrere Einzelgaben von Veritol verabfolgt wurden, gemessen. Die Resultate sind in Tabelle 6 enthalten. Die insgesamt verabfolgte Veritolmenge liegt hier zwischen 0,87 und 8,3 γ/g Herz. Die Abnahme von $\Delta V/\Delta P$ betrug nach diesen Dosen trotz der an sich niedrigen $\Delta V/\Delta P$-Werte vor der Gabe 0,04—0,10. Auch hier sinkt $\Delta V/\Delta P$ niemals unter 0,04.

Tabelle 6.

Dosis γ/g Herz	$\Delta V/\Delta P$ vor der Gabe	$\Delta V/\Delta P$ nach der Gabe	$\Delta V/\Delta P$ Änderung	$\frac{\Delta P/\Delta V \text{ nachher} \cdot 100}{\Delta P/\Delta V \text{ vorher}}$
0,87	0,20	0,12	— 0,08	167
0,92	0,14	0,07	— 0,07	200
1,05	0,09	0,04	— 0,05	225
1,50	0,14	0,05	— 0,09	280
1,60	0,13	0,05	— 0,08	260
1,95	0,12	0,08	— 0,04	150
2,68	0,19	0,09	— 0,10	210
8,30	0,10	0,05	— 0,05	200

Versucht man die Änderung von $\Delta V/\Delta P$ als Funktion der Gabe in γ/g Herz darzustellen (Abb. 5), so findet sich für die Resultate der Tabelle 5 und 6 keine einheitliche Beziehung der beiden Größen.

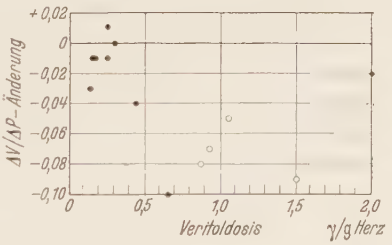


Abb. 5. ● Werte der Tabelle 5;
○ Werte der Tabelle 6.

Die Änderung von $\Delta V/\Delta P$ ist eine Änderung der Elastizität im Endpunkt der Systole. Diese Elastizität, die ungefähr der Größe $\Delta P/\Delta V$ proportional ist, ist dann verdoppelt, wenn $\Delta V/\Delta P$ halbiert ist. Setzt man $\Delta P/\Delta V$ vor der Gabe = 100, so ist die Elastizität nach der Gabe

$$\frac{\Delta P/\Delta V \text{ nachher} \cdot 100}{\Delta P\ \Delta V \text{ vorher}}.$$

Im letzten Stab der Tabellen 5 und 6 ist diese relative Elastizität nach der Gabe errechnet. Trägt man die prozentuale Zunahme der systolischen Elastizität als Ordinate, die Gaben in γ/g Herz als Abszisse auf, so erhält man die Abb. 6. Die Abbildung zeigt, daß bei Gaben bis zu 0,3 γ/g Herz die Elastizität in der Mehrzahl der Fälle sich praktisch nicht ändert. Bei

Gaben zwischen 0,4 und 1,6 γ/g Herz ist die prozentuale Zunahme der Elastizität ungefähr der Dosis proportional. In zwei Fällen einer Gabe von 2,0 γ/g Herz und auch bei den nicht gezeichneten Gaben von 2,68 und 8,3 γ/g Herz bleibt dagegen die Elastizitätszunahme zurück. Das ist dadurch bedingt, daß die Elastizität über einen bestimmten Maximalwert ($\Delta V/\Delta P = 0{,}04$, $\Delta P/\Delta V = 25$) hinaus nicht zunehmen kann. Ist daher $\Delta V/\Delta P$ schon vor der Gabe sehr klein, so bleibt für eine größere Gabe nur eine beschränkte Wirkungsmöglichkeit. Daß diese Zunahme der systolischen Elastizität auch am Menschen an einer regelmäßig verkürzten Anspannungszeit nachzuweisen ist, konnte kürzlich Blumberger (19) zeigen.

Die Abnahme des Herzvolumens muß bei konstantem Minutenvolumen auch eine Abnahme der Vorhofdrucke zur Folge haben. Die gleichzeitige

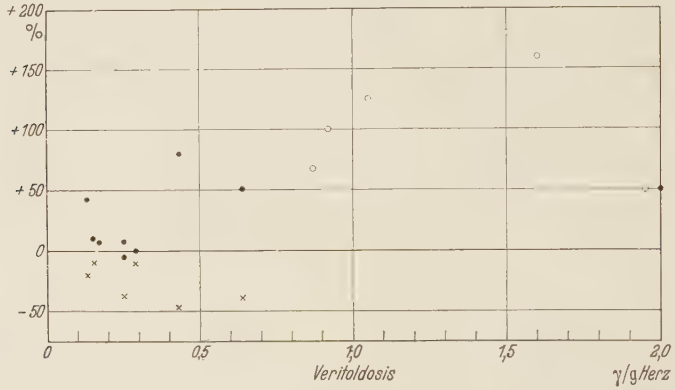


Abb. 6. Die Ordinate bedeutet für die Werte der Tabelle 5 (●) und der Tabelle 6 (○) die Zunahme der systolischen Elastizität in % der systolischen Elastizität vor der Veritolgabe. Sie bedeutet für die Werte der Tabelle 7 (×) die Abnahme der diastolischen Elastizität in % der diastolischen Elastizität vor der Veritolgabe.

Zunahme der Pulszahl muß ihrerseits die Vorhofdrucke senken. Beide Reaktionen sind somit nur indirekte Folgen der durch Veritol bedingten Herzvolumenabnahme. Es konnte darüber hinaus eine direkte Wirkung des Veritols auf die Vorhofdrucke durch Senkung des Herztonus festgestellt werden. Als Tonus ist dabei die Ruhe-Elastizität des Herzens zu verstehen, d. h. die Zunahme des diastolischen Volumens je cm Zunahme der Summe beider Vorhofdrucke. In früheren Arbeiten [E. A. Müller (14) (15)] wurde ausführlich zur Frage der Tonusbestimmung auf diesem Wege Stellung genommen. In Tabelle 7 ist die Beeinflussung des Verhältnisses Δ diastolisches Volumen/Δ Summe der Vorhofdrucke durch Veritol zusammengestellt. Die Änderung des diastolischen Volumens wurde durch eine Änderung des Aortendruckes erreicht. Im letzten Stab wurde wiederum die relative Änderung der Elastizität errechnet. Wir finden eine Abnahme zwischen 0 und 50%, die gleichfalls in Abb. 6 als Funktion der Dosis ein-

gezeichnet ist. Bei der geringen Zahl der Werte ist eine Abnahme proportional der Dosis nicht sicher.

Tabelle 7.

Dosis γ/g Herz	Δ diastolisches Volumen / Δ Summe der Vorhofdrucke			X
	vor Veritol	nach Veritol	Differenz	
0,13	9,5	12,0	+ 2,5	79
0,15	2,5	2,7	+ 0,2	91
0,25	9,5	15,2	+ 5,7	62
0,29	1,8	2,0	+ 0,2	91
0,43	2,1	4,0	+ 1,9	52
0,64	1,9	3,1	+ 1,2	61

$$X = \frac{\Delta \text{ Summe Vorhofdrucke} / \Delta \text{ diastolisches Volumen nachher} \cdot 100}{\Delta \text{ Summe Vorhofdrucke} / \Delta \text{ diastolisches Volumen vorher}}$$

Die Tonusabnahme des Herzens nach Veritol befähigt das Herz, eine bestimmte Leistungszunahme mit einem kleineren Anstieg der Venendrucke zu bewältigen. Das ist sowohl für einen Leistungsanstieg durch Zunahme des Minutenvolumens wie durch einen Anstieg der arteriellen Drucke gültig. Bei konstantem diastolischen Herzvolumen liegt nach Veritol die Summe der Vorhofdrucke niedriger als vorher. In Tabelle 8 sind aus 3 Versuchen Venendrucke vor und nach Veritol für das gleiche diastolische Herzvolumen bei konstanter Leistung zusammengestellt.

Tabelle 8.

Summe der Vorhofdrucke cm W.-S.		Frequenz	
vor Veritol	nach Veritol	vor Veritol	nach Veritol
12,6	10,7	128	148
6,8	4,4	130	156
8,7	7,6	160	170
7,1	6,2	126	143
9,0	8,0	140	148

Die Tabelle zeigt, daß nach Veritol die Venendrucke 10—30% niedriger liegen. Es bleibt allerdings unentschieden, zu welchem Teil diese Abnahme durch die gleichzeitige Frequenzerhöhung (letzter Stab der Tabelle 8) bedingt ist. Aus den bisherigen Versuchen über die Beziehungen zwischen Frequenzänderung und Verhalten der Vorhofdrucke [Kiese und Garan (16)] folgt eine Abnahme der Vorhofdrucke unter Frequenzzunahme. Dabei fand jedoch auch eine Abnahme des diastolischen Herzvolumens statt. Ob bei konstantem diastolischen Volumen gleichfalls eine Abnahme der Vorhofdrucke unter Frequenzzunahme besteht, ist noch nicht untersucht worden.

Die Zunahme der Herzfrequenz betrug im Dosenbereich 0,13—2,00 γ/g Herz im Mittel von 38 Gaben in 26 Herz-Lungenpräparaten 59 Pulse je

γ/g Herz. In diesem Dosenbereich wurden Frequenzzunahmen zwischen 0 und 90 Pulsen gemessen. Eine wiederum starke Streuung der Einzelmessung erlaubt es nicht, Beziehungen zwischen Frequenzzunahme und Dosis, Herzzustand usw. aufzufinden. Die Zunahme der Frequenz ist nur etwa für die Hälfte der Fälle der Volumenabnahme (Dosen 0,13—0,45 γ/g Herz) proportional, wobei für 10 ccm Volumenabnahme eine Frequenzzunahme um 30 Pulse zu verzeichnen ist.

Alle beschriebenen Wirkungen schwanken im Einzelversuch so stark und dauern so lange an, daß es nicht möglich ist, die Wirkung unbekannter, veritolähnlich wirkender Stoffe im gleichen Versuch mit genügender Sicherheit auf Wirkungsgleichheit zu prüfen. Da es jedoch praktisch nicht möglich ist, 20—30 Versuche für jeden Vergleich anzustellen, und diese statistisch auszuwerten, wurde folgende Methode zur Prüfung langwirkender Substanzen entwickelt:

Aus Tabelle 3 folgte, daß bei durchschnittlich 90 Minuten Zwischenzeit 2 Gaben am gleichen Präparat etwa die gleiche Herzvolumenabnahme hervorrufen, wenn die Einzelgabe 0,45 γ/g Herz nicht überschreitet.

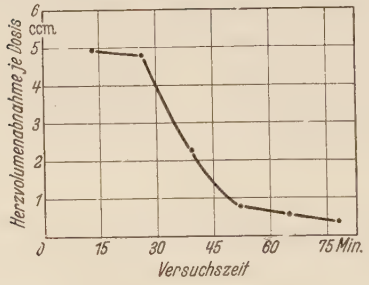


Abb. 7. Hund, 6,0 kg, Herzgewicht 41 g; ● Herzvolumenabnahme nach 0,24 γ/g Herz Veritol sulf.

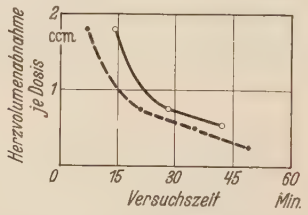


Abb. 8. Hund, 6,0 kg, Herzgewicht 41 g; ● Herzvolumenabnahme nach 0,4 γ/g Herz Veritol sulf.; o Herzvolumenabnahme nach 0,5 γ/g Herz Veritol sulf.

Gibt man jedoch gleichgroße Gaben in kurzen zeitlichen Abständen und läßt damit dem Herzen nicht die Zeit, wieder zur Ausgangslage zurückzukehren, so findet man eine erhebliche Wirkungsabnahme. In Abb. 7 ist ein Versuch wiedergegeben, in dem alle 13 Minuten 0,24 γ/g Herz Veritol sulfuric. verabfolgt wurden. Von der 3. Gabe ab wirkt jede Gabe geringer als die vorausgegangene. Diese Wirkungsabnahme ist in ihrem Verlauf je nach Gabe, zeitlichen Abständen und anderen unbekannten Faktoren von Präparat zu Präparat verschieden. Sie zeigt jedoch immer einen stetigen Verlauf, der es uns erlaubt, eine eingestreute unbekannte Dosis eines veritolähnlich wirkenden Stoffes (oder eines der Salze oder Isomeren des Veritols selbst) mit den die Kurve bestimmenden, bekannten und konstanten Veritol sulfuric.-Gaben zu vergleichen. Bei diesem Vergleich findet man zwischen der 1. und 2. Gabe gewöhnlich keinen oder einen geringen Wirkungsabfall. Das ist dem schon erfaßten Umstand zuzuschreiben,

daß sich das Herz in einem gewissen Bereich der Dosis proportional verkleinert. Erst nach Erreichen eines bestimmten Minimalvolumens nimmt die Volumenabnahme für eine bestimmte Dosis mit weiterer Herzverkleinerung ab.

In Abb. 8 wurde in Abständen von 7 Minuten abwechselnd 0,4 und 0,5 γ/g Herz Veritol sulfuric. gegeben und die je Dosis erzielte Herzvolumenabnahme als Ordinate gezeichnet. Die Punkte der größeren und kleineren Dosis wurde durch je eine Linie verbunden. Wir finden 2 in ungefähr konstantem Abstand verlaufende Kurven. Die volumenverkleinernden Wirkungen der beiden Dosen verhalten sich dabei im Verlauf der beiden Kurven wie 3 : 5 bis 4 : 5. Will man einen exakten quantitativen Vergleich durchführen, so muß man allerdings anstreben,

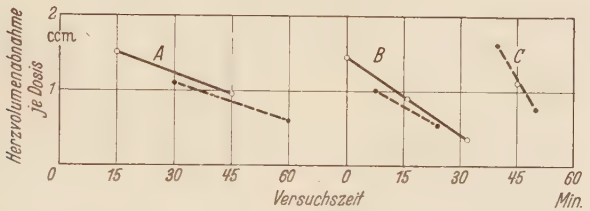


Abb. 9. Hund, 7,0 kg, Herzgewicht 46 g; Herzvolumenabnahme nach A = 0,16 γ/g Herz, B = 0,33 γ/g Herz, C = 1,1 γ/g Herz. Veritol sulf. (●); Veritol citric. (○).

die Dosen wirkungsgleich zu bekommen. Anderenfalls beeinflußt der Kurvenzug der größeren Dosis den der kleineren, da die Wirkungsabnahme einer Dosis und damit die Steilheit des Kurvenabfalls durch die Größe der voraufgegangenen Dosis bestimmt ist. Die Wirkung einer Dosis ist um so kleiner, je größer die voraufgegangene Dosis war. Die 3. Gabe von 0,4 γ/g Herz in Abb. 8 wirkt somit nach der voraufgegangenen Gabe von 0,5 γ/g Herz schwächer als nach 0,4 γ/g Herz. Umgekehrt liegt der 4. Punkt höher als nach einer Dosis von 0,5 γ/g Herz an 3. Stelle. So kommt es, daß im Verlauf der beiden Kurven die Wirkung der kleineren Dosis rund 30% kleiner ist als die der großen, während die Dosis selbst nur um 20% differiert. Ganz allgemein werden bei dem Prüfverfahren in einer Reihe konstanter Dosen die Wirkungen abweichender Dosen prozentual größere Abweichungen zeigen als dem Unterschied der Dosen entspricht. Diese Tatsache erhöht die Empfindlichkeit des Verfahrens.

Wir haben mit diesem Verfahren die Herzvolumenwirkung von Veritol sulfuric., Veritol citric. (tertiäres Salz), Veritol formicic., l- und d-Veritolsulfuric. miteinander verglichen. Abb. 9 und 10 zeigen Versuche, in denen abwechselnd in konstanten zeitlichen Abständen die gleiche Dosis Veritol sulfuric. und Veritol citric. gegeben wurde. Die Punkte der Wirkungen der Veritol sulfuric.-Gaben sind jeweils durch gestrichelte, die der Veritol citric.-Gaben durch ausgezogene Linien verbunden. Der Kurvenverlauf

zeigt, daß beide Stoffe innerhalb 10% wirkungsgleich sind. Abb. 11 zeigt in 2 Versuchen den Vergleich von Veritol sulfuric. und Veritol formicic. Auch hier ist kein Unterschied in d.. Wirkungsgröße nachzuweisen. In den Abb. 12—15 wurde Veritol sulfuric. mit d- und l-Veritol in der gleichen Weise verglichen. Praktisch hat die Rechts- und Linksform des Veritols dieselbe Volumenwirkung wie das racemische Veritol. Das bestätigt die Befunde von Lindner und Göpfert (17) am Froschherzen.

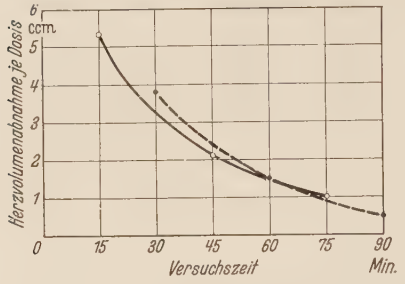


Abb. 10. Hund, 6,0 kg, Herzgewicht 54 g; ● Herzvolumenabnahme nach 0,14 γ/g Herz Veritol sulf.; ○ Herzvolumenabnahme nach 0,14 γ/g Herz Veritol citric.

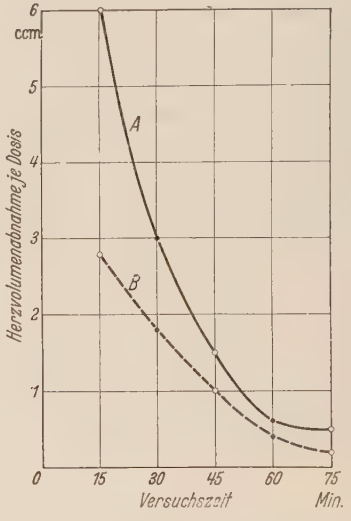


Abb. 11. *A* Hund, 8,0 kg, Herzgewicht 73 g; *B* Hund, 5,0 kg, Herzgewicht 38 g; ● Herzvolumenabnahme nach 0,14 γ/g Herz Veritol sulf.; ○ Herzvolumenabnahme nach 0,14 γ/g Herz Veritol formicic.

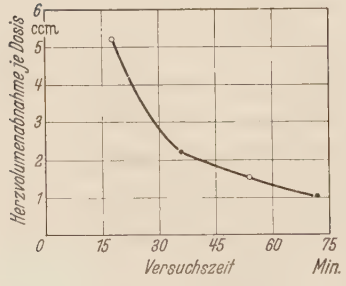


Abb. 12. Hund. 8,5 kg, Herzgewicht 95 g; ● Herzvolumenabnahme nach 0,16 γ/g Herz Veritol sulf.; ○ Herzvolumenabnahme nach 0,16 γ/g Herz d-Veritol.

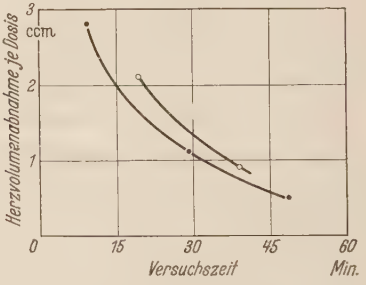


Abb. 13. Hund, 6,0 kg, Herzgewicht 44 g; ● Herzvolumenabnahme nach 0,57 γ/g Herz Veritol sulf.; ○ Herzvolumenabnahme nach 0,57 γ/g Herz d-Veritol.

Es wurden auch Versuche unternommen, nach dem gleichen Verfahren die blutdrucksteigernde Wirkung der gleichen Stoffe quantitativ auszuwerten. Dabei zeigte sich, daß die Stetigkeit der Wirkungsabnahme in konstanten zeitlichen Abständen wiederholter konstanter Dosen durch einen erneuten Wirkungsanstieg plötzlich unterbrochen wird, weil die

Blutdruckwirkung aus einer Reihe von Teilwirkungen zusammengesetzt ist [Heymans und Bayless (18)]. Diese Teilwirkungen haben verschiedene Wirkungsschwellen. Immer wenn eine neue Wirkungsschwelle überschritten wird, springt die Wirkung herauf. Es sind Versuche im Gange, trotz dieser Schwierigkeiten einen quantitativen Vergleich langwirkender Stoffe auch am Blutdruck zu ermöglichen.

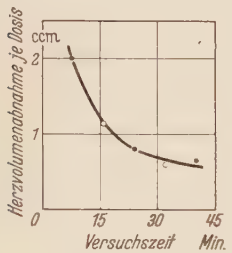


Abb. 14. Hund, 5,5 kg, Herzgewicht 38 g; ● Herzvolumenabnahme nach 0,4 γ/g Herz Veritol sulf.; ○ Herzvolumenabnahme nach 0,4 γ/g Herz l-Veritol.

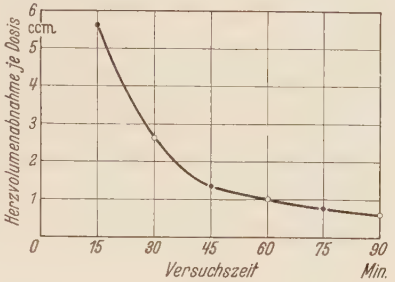


Abb. 15. Hund, 6,0 kg, Herzgewicht 44 g; ● Herzvolumenabnahme nach 0,23 γ/g Herz Veritol sulf.; ○ Herzvolumenabnahme nach 0,23 γ/g Herz l-Veritol.

Zusammenfassung.

Veritol führt im Herz-Lungenpräparat von Hunden bei konstanter Leistung zu einer Herzvolumenabnahme, die zwischen Dosen von 0,13 und 0,45 γ/g Herz im Mittel von 26 Versuchen der Dosis proportional ist. 1 γ Veritol/g Herz verkleinert das Herzvolumen um 20 ccm (mittlerer Fehler ± 4 ccm) bei Herzgewichten zwischen 38 und 135 g. Diese Wirkung ist etwa 3mal größer als die des Tyramins. Sie dauert wenigstens 8mal länger. Auf etwa 10 ccm Herzvolumenabnahme fällt eine Frequenzvermehrung um 30 Pulse.

Die Wirkungsgröße schwankt in weiten Grenzen von Versuch zu Versuch. Sie ist abhängig von der Ausgangsgröße des Herzens und der Zeit der Gabe seit Versuchsbeginn. Bei wenigstens ½stündiger Zwischenzeit ist im Mittel kein Wirkungsabfall von einer ersten zu einer zweiten Dosis zu beobachten.

Eine relativ gute Proportionalität zwischen Dosis und Wirkung erhält man für die Zunahme der Elastizität des systolischen Herzens. Diese kann sich nach Veritol nahezu verdreifachen.

Veritol vermindert zugleich die Elastizität des diastolischen Herzens. Die Venendrucke bei gleichem diastolischen Volumen des Herzens können nach Veritol 10—30% niedriger liegen.

Zum quantitativen Vergleich verschiedener Veritolpräparate und verwandter Stoffe mit langer Wirkungsdauer an einem Herzen wurde

eine neue Methode entwickelt. Mit dieser wurde praktische Wirkungsgleichheit von Veritol sulfuric., d-Veritol, l-Veritol sowie von Veritol citric. (tertiäres Salz) und Veritol formicic. nachgewiesen.

Literatur.

1) Biehler: Z. exper. Med. **101**, 62 (1937). — 2) Rein: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617 (1937); Klin. Wschr. **1937**, S. 700. — 3) Mügge: Klin. Wschr. **1937**, S. 1241. — 4) Eichler: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937). — 5) Lindner: Ebenda **187**, 444 (1937). — 6) Zipf: Ebenda **189**, 679 (1938). — 7) Kiese, Garan u. Krautwald: Klin. Wschr. **1938**, S. 967. — 8) Gollwitzer-Meier u. Kroetz: Ebenda **1939**, S. 869. — 9) Müller, E. A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 492 (1937). — 10) Müller, E. A.: Ebenda **194**, 426 (1940). — 11) Müller, E. A.: Pflügers Arch. **243**, 341 (1940). — 12) Rietschel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 534 (1940). — 13) Gremels: Ebenda **194**, 629 (1940). — 14) Müller, E. A.: Erg. Physiol. usw. **43**, 89 (1940). — 15) Müller, E. A.: Pflügers Arch. **243**, 336 (1940). — 16) Kiese u. Garan: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 226 (1938). — 17) Lindner u. Göpfert: Ebenda S. 675. — 18) Heymans u. Bayless: Arch. internat. Pharmacodynam. **56**, 319 (1937). — 19) Blumberger, Arch. Kreislauff. **6**, 203 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.

Untersuchungen über den Mechanismus der Wirkung der Sympathicomimetica.

V. Über die Wirkung einiger Aminosäuren auf die sympathischen Receptoren.

Von

G. Malorny und **G. Orzechowski.**

(Eingegangen am 12. September 1940.)

In den vorangegangenen Mitteilungen[1] konnte gezeigt werden, daß bei den Sympathicomimeticis einem bestimmten chemischen Bauprinzip anscheinend gewisse pharmakologische Wirkungen zugeordnet sind. Daran änderte sich nichts, wenn die chemische Abwandlung recht weitgehend wurde. Diese Tatsache steht in Übereinstimmung mit Angaben der Literatur, wonach offenbar noch weitergehende chemische Veränderungen Grundzüge dieser pharmakologischen Wirkungen nicht beseitigen (Loewe[2]). Die Einbeziehung einiger Lokalanaesthetica in den Kreis dieser Untersuchungen hatte gezeigt, daß auch diese imstande waren, die von uns besonders studierten Wirkungen an spezifischen sympathischen Strukturen auszuüben. Wie in der vorangegangenen Mitteilung[3] beschrieben wurde, erhöhten Novocain, Pantocain und Cocain die Empfindlichkeit der Gefäße gegen Adrenalin. Ferner waren Anhaltspunkte dafür zu gewinnen, daß sie eine tachyphylaktische Reaktion erzeugen und das Phänomen der Wirkungsabschwächung nicht nur bei wiederholter Zufuhr des Tachyphylaktogens zeigen, sondern auch bei späterer Zufuhr eines ephedrinähnlichen Stoffes. Dadurch ließ sich eine weitere Brücke zu der Wirkung der ephedrinartigen Stoffe schlagen. Schließlich wurde auch durch die untersuchten Lokalanaesthetica eine Wirkungsabschwächung für Adrenalin erreicht.

Es lag nun nahe, auf dem einmal beschrittenen Wege zu bleiben und das Verhalten von anderen, ähnlich gebauten Substanzen zu untersuchen. Besonders interessierte uns dabei das Verhalten pressorisch schwach oder kaum wirksamer Stoffe, von denen man weiß, daß sie im tierischen Körper in größeren Mengen vorkommen können.

Die Einführung kreislaufwirksamer chemischer Stoffe in die Therapie hat nur dann einen Sinn, wenn dabei eine Veränderung gegenüber dem bereits Vorhandenen erreicht wird. Das Adrenalin ist ein sehr wirksamer Stoff. Vielleicht ist es das sympathische Hormon oder Ergin des Körpers selbst. Um diese Funktion ausüben zu können, muß es ebenso rasch verschwinden können, wie es auftritt. Wir wissen, daß es rasch zerfällt. Die

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 237—265 (1940). — [2] Z. exper. Med. **56**, 271 (1927). — [3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 260 (1940).

Zerfallsgeschwindigkeit dürfte indessen nicht so groß sein, wie sie von einem Kreislaufhormon mit einer Wirkungsgeschwindigkeit, die größenordnungsmäßig mit einer Nervenwirkung übereinstimmen muß, aus allgemein physiologischen Erwägungen heraus zu fordern ist. In den Versuchen von Bain und Suffolk[4] wurde zugesetztes Adrenalin durch dünne Schnitte von Lebergewebe erst nach 4stündigem Verweilen im Brutschrank völlig unwirksam. Auch in den Versuchen von Blaschko und Mitarbeitern[5] erforderte die Zerstörung des Adrenalins durch Leberbrei eine beträchtliche Zeit. Aus theoretischen Gründen ist deshalb anzunehmen, daß Adrenalin ein Potentialgift ist (Kudrjawzew[6], Bauer und Fröhlich[7], Jendrassik und Moser[8]). Trendelenburg[9] lehnt diese Auffassung ab, da keine typischen Auswascheffekte aufträten. Ob diese Forderung zu Recht besteht, ist noch nicht erwiesen. Einmal gibt es eine ganze Reihe von Beobachtungen, die Auswascheffekte angeben (Kuyser und Wijsenbeek[10], Jendrassik und Moser[11], Schkawera und Sentjurin[12], Stuber und Proebsting[13], dagegen Fritz[14]). Zum anderen gilt Trendelenburgs Forderung nur für Stoffe, die weder zerstört noch durch Adsorption elidiert werden können. Hierfür liefert eine Beobachtung Langeckers[15] einen interessanten Hinweis. Sie beobachtete das typische Auswaschphänomen am Kaninchenuterus, wenn auch nicht an allen untersuchten Stücken. Bei manchen trat es beim Wegwaschen jeden Adrenalinzusatzes auf. „Besonders interessant waren Fälle, in denen die Adrenalinwirkung durch vorangegangene hemmende Vergiftung (sc. durch Mutterkornalkaloide) aufgehoben war, aber beim Auswaschen eine Kontraktion, das erwähnte Auswaschphänomen, auftrat, hingegen später, nachdem die Adrenalinwirkung sich wieder eingestellt hatte, ausblieb." Wir verweisen hierzu auf unsere Ausführungen in der III. Mitteilung[16]. Dort war gezeigt worden, daß Ergotamin und Ergometrin die Wirkorte des peripherstenSympathicus belegen. Wir können vorwegnehmen, daß wir mit der Methode von Blaschko[17] eine Hemmung der Adrenalinoxydase durch Ergotaminsulfonat beobachtet haben. Nimmt man an, daß die Adrenalinwirkung Potentialgiftcharakter hat, dann wird die kurzdauernde Wirkung der dazu nötigen winzigen Mengen noch verständlicher. Diese Kürze der Wirkung kann bei entsprechend großer Wirksamkeit des Stoffes dem Wirkungscharakter die Form eines höchst unerwünschten Stoßes geben. Die Einführung des Sympatols und der Ephedrinderivate erklärt sich aus dem berechtigten Wunsche des ärztlichen Praktikers, Stoffe von geringerer Wirksamkeit in die Hand zu bekommen. Wie wir schon in den vorangegangenen Mitteilungen auseinandergesetzt

[4] J. Physiol. (Brit.) **86**, 34 P (1936). — [5] Ebenda **90**, 1 (1937); **89**, 39 P (1937); **93**, 7 P (1938); Biochem. J. **31**, 2187 (1937). — [6] Z. exper. Med. **41**, 114 (1924). — [7] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **84**, 33 (1919). — [8] Biochem. Z. **151**, 94 (1924). — [9] Die Hormone I. Berlin 1929. — [10] Pflügers Arch. **154**, 16 (1913). — [11] A. a. O. — [12] Z. exper. Med. **44**, 692 (1925). — [13] Ebenda **40**, 263 (1924). — [14] Pflügers Arch. **220**, 495 (1928). — [15] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **118**, 59 (1926). — [16] Ebenda **196**, 260 (1940). — [17] A. a. O.

haben, gewinnt dabei die Frage des Verbleibens der Stoffe in den spezifischen Grenzflächen ein steigendes Interesse. Nicht minder wichtig erschienen uns die weniger wirksamen Stoffe, die ihre Affinität zu den spezifischen Grenzflächen nicht so deutlich zum Ausdruck bringen können.

Besonders interessant und vielleicht auch praktisch nicht ganz unwichtig konnte das Verhalten des Tyrosins werden. Es steht in ebenso naher Beziehung zu den ephedrinartigen Stoffen wie das Novocain. Adrenalinsensibilisierung durch Aminosäuren ist bekannt, wie wir später noch dartun werden, so daß auch von dieser Seite her Versuche mit dem Tyrosin nicht aussichtslos erscheinen. Schließlich wurde unsere Aufmerksamkeit besonders durch die noch völlig ungeklärte pharmakologische Bedeutung dieser Aminosäure im pathologischen Geschehen gefesselt. Es war ja anzunehmen, daß Tyrosin bei schwacher pressorischer Eigenwirkung unter pathologischen Umständen in ausreichend großen Mengen vorhanden sein kann, um mechanische Wirkungen an den spezifischen Strukturen in dem früher geschilderten Sinne zu entfalten.

Die Versuche wurden an dekapitierten Katzen in der üblichen Weise ausgeführt. Wir haben zu unseren Versuchen das linksdrehende natürliche Tyrosin im allgemeinen in Na_2CO_3-Lösung angewendet. Es ergab sich eine Sensibilisierung der sympathischen vasokonstriktorischen Enden gegenüber Adrenalin von 50—300%. Die Sensibilisierung verschwand nach Zufuhr von 12—111 mg Tyrosin (nach 64—314 Minuten) und machte einer zunehmenden Abschwächung der Adrenalinwirkung Platz. Im Anfange bewirkten Einzeldosen von 500 γ Tyrosin pro kg eine geringe Blutdrucksteigerung von 60 auf 75 mm Hg. Schon die nächste Injektion der gleichen Menge ergab nur noch eine angedeutete Blutdrucksteigerung. Im weiteren Verlauf führten Injektionen von 10 mg kg Tyrosin praktisch zu keiner Veränderung des Blutdruckes mehr. Auch die Reaktion auf Ephedrin und Veritol wurde bald sehr gering. Dagegen haben wir eine Blutdrucksenkung nach Tyrosin nicht beobachtet.

Das Tyrosin verhielt sich also ephedrinähnlich.

Wir haben nunmehr das Alanin untersucht, um einen Eindruck von der Bedeutung des Ringes beim Zustandekommen von Ephedrinreaktionen zu erlangen. Das Alanin zeigte nur eine deutliche und sehr lange anhaltende Adrenalinsensibilisierung (um etwa 300% für 610 Minuten und 4425 mg). Dagegen gelang es uns auch bei 16stündiger Versuchsdauer nicht, eine Abschwächung von Veritol oder gar von Adrenalin zu erzwingen. Ähnlich verhielten sich Cystin und Cystein. Auch bei diesen Stoffen war nur eine Adrenalinsensibilisierung zu beobachten.

Diese Versuche bestätigen und erweitern die in der Literatur hinsichtlich der Adrenalinsensibilisierung durch Aminosäuren niedergelegten Erfahrungen. Abderhalden und Mitarbeiter[18] fanden Adrenalinsensibilisierung durch Tryptophan am Herzstreifenpräparat. Kinoshita[19] machte

[18] Pflügers Arch. **225**, 558 (1930). — [19] Okayama-Igakkai-Zasshi **45**, 69 (1933); Ber. Physiol. **72**, 750.

entsprechende Beobachtungen am Kaninchenohr für Tryptophan, Alanin, Glykokoll und Histidin. Katoh[20] bestätigte die Befunde am Kaninchenohr für d- und l-Alanin.

Wichtig erscheinen uns die aufgefundenen Wirkungen des Tyrosins. Die Erfahrungen mit den ephedrinähnlichen Stoffen besagten, daß je nach dem Angebot eine Sensibilisierung der sympathischen vasokonstriktorischen Enden oder ihre Blockade erreicht werden kann. Das Bild dieser Blockade entspricht in etwa dem von den Chirurgen als chronischer Kreislaufkollaps so gefürchteten Folgezustand von langdauernden Abdominaloperationen oder von Verbrennungen. Durch die Arbeiten von Zinck[21] ist die Aufmerksamkeit in letzter Zeit auf die Leber gelenkt worden. Er konnte zeigen, daß bei diesen Zuständen das pathologisch-anatomische Bild der serösen Entzündung auftritt. Dabei waren die Leberveränderungen besonders charakteristisch. Die seröse Entzündung muß natürlich nicht eine Folge des Kollapses sein (Meessen[22]), der umgekehrte Zusammenhang wird in der Mehrzahl der Fälle die größere Wahrscheinlichkeit haben. Nach Brancati[23] sind die Endprodukte des Eiweißstoffwechsels der Leber nach vorangegangener Schädigung, z. B. nach einer Verbrennung, kollapsbefördernd. Zinck hat Befunde dafür erbracht, daß die Leberschädigung beim Zustandekommen des Verbrennungskollapses eine entscheidende Rolle spielt. Wenn man berücksichtigt, daß die Ausscheidung von Tyrosin im Harn eine häufige Folge schwerer Lebererkrankungen ist, dann bekommen unsere Befunde eine besondere Bedeutung. Es ist denkbar, daß die Ausscheidung von Tyrosin im Harn einen hohen Gehalt dieser Substanz im Blute zur Voraussetzung hat. Es wird Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, den Zusammenhang zwischen Leberschädigung, Tyrosingehalt des Blutes und Kreislaufinsuffizienz zu studieren. Wichtig ist hierbei die Feststellung, daß die wesentlich häufigere und als harmlos geltende Cystinurie keine Einschränkung der vorgetragenen Meinung bedeutet, da das Cystin auch in hoher Dosierung und bei langer Ausdehnung der Versuche keine Abschwächung der Adrenalinwirkung erzeugte.

Zusammenfassung.

1. Tyrosin wirkte an der dekapitierten Katze in mancher Hinsicht ephedrinähnlich.

2. Cystin und Alanin erzeugten nur eine Adrenalinsensibilisierung. Eine Abschwächung der Blutdruckwirksamkeit des Adrenalins ließ sich auch durch hohe Dosen und bei zeitlich sehr langer Ausdehnung der Versuche nicht erreichen.

3. Die möglichen Zusammenhänge zwischen der Tyrosinwirkung, Leberschädigung mit Tyrosinurie und Kreislaufinsuffizienz werden diskutiert.

[20] Jap. J. med. Sci., Trans. IV. Pharmacol. **8**, 130* (1934); Ber. Physiol. **84**, 324. — [21] Pathologische Anatomie der Verbrennung. Jena 1940; Klin. Wschr. **1940**, 78. — [22] Verh. Dtsch. Ges. Kreislforsch. 1938. — [23] Zit. nach Zinck.

Aus dem Anatomischen und dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.

Untersuchungen über die Wirkungsweise der Sympathicomimetica.

VI. Über die Wirkung einiger Sympathicomimetica auf die Deckzellen des Meerschweinchennetzes.

Von

Klaus Niessing und **Gerhard Orzechowski.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. September 1940.)

Seit langer Zeit beschäftigt die Anatomen das Problem des aktiven Formwandels nichtmuskulärer Zellen. Kühne[1] beobachtete bei Lebenduntersuchung des Unterhautbindegewebes vom Frosch schon 1864 aktive Formänderungen der Bindegewebszellen. Er spricht von „Kontraktilität" und versteht darunter Veränderungen der Zellform, wo durch ein Ineinanderfließen des Plasmas ursprünglich getrennter Zellen oder umgekehrt die Lösung der plasmatischen Verbindung mehrerer Zellen zustande kommt. Eine „Irritabilität" wie das Muskelplasma sollen die von ihm in Lymphe untersuchten Bindegewebszellen indessen nicht haben. „bei Öffnung und Schließung des konstanten Stromes" sah er keinerlei Veränderung. Nach seinen Zeichnungen zu urteilen, sind Kühnes Bindegewebszellen Fibrozyten gewesen. Für diese Zellen haben v. Möllendorff und seine Schüler[2]) gezeigt, daß sie sich bei bestimmt abgestufter Reizung durch Zusammenziehung ihres Plasmas aus ihrem Zellverband herauslösen und zu freien Zellen umwandeln können. Bei Anwendung eines plötzlichen, schockartigen Reizes breiten sich die Fibrozyten flächenhaft aus, langandauernde gleichmäßige Reize begünstigen die Bildung freier Zellen aus dem Fibrozytennetz. Sehr deutlich traten diese Formänderungen am Meerschweinchennetz hervor (v. Möllendorff[3], Kurosawa[4]). Bei Tieren, die im anaphylaktischen Schock getötet waren, hatten sich die Netzlöcher verengert, weil das Fibrozytenplasma sich ausgebreitet hatte. Die freien Zellen als Abkömmlinge der Fibrozyten des Netzes waren dementsprechend nicht wesentlich vermehrt.

Die Fähigkeit der Formänderung veranlaßte Niessing[5], dieses Material zu einer genaueren Untersuchung des Kontraktilitätsproblems an nichtmuskulären Zellen zu benutzen. Er versuchte besonders die Frage zu klären, ob die plasmatische Kontraktion stets mit einer Isolierung der Zelle aus ihrem Verband heraus verknüpft ist, oder ob sie sich auf das ge-

[1] Kühne, W.: Unters. über d. Protoplasma und die Kontraktilität. Leipzig 1864. — [2] Z. Zellforsch. **3**, 503 (1926); **6**, 61, 151 (1927). — [3] A. a. O. — [4] Z. Zellforsch. **8**, 425 (1929). — [5] Ebenda **28**, 238 (1938).

samte Fibrozytennetz etwa im Sinne einer „Tonus"-Änderung auswirkt. Für derartige Untersuchungen eignet sich nur ein Objekt, bei dem ein kontinuierlicher Zellverband vorliegt, bei dem aber das Vorhandensein von Muskelzellen mit Sicherheit auszuschließen ist. Dieser Sonderfall ist im areolären Bindegewebe des großen Netzes beim Meerschweinchen verwirklicht. Außer den Gefäßstraßen, die man bei der Untersuchung ausschließen kann, hat das Netz keine Muskelzellen. Die Zellen, die die kollagenen Faserbündel röhrenartig umgeben, werden als Deckzellen bezeichnet. An den Kreuzungsstellen der Bündel verbreitert sich das Plasma dieser Deckzellen zu breiteren Zellterritorien. Die Deckzellen werden als Fibrozyten angesprochen. Die Zartheit der Balken des Meerschweinchennetzes bieten für experimentelle Untersuchungen viele Vorteile. Auch die Abstände der Gefäßstraßen voneinander sind so groß, daß man leicht gefäßfreie, d. h. muskelzellfreie Netzabschnitte von hinreichender Größe findet.

Bei Einwirkung von Adrenalin, „Sympatol" und Ergotamin beobachtete Niessing eine Spannungserhöhung des Netzes durch „Kontraktion" der Fibrozyten, die im Extremfall die Netzlöcher fast völlig verschloß. Es bestand nunmehr die Aussicht, an diesem ganz peripheren und dazu noch muskelfreien Gewebe pharmakologische Untersuchungen über die Wirkung der Sympathicomimetica anstellen zu können. Die Untersuchungen von Niessing hatten ergeben, daß auch das „Sympatol" prinzipiell die gleiche Wirkung auf das Netz ausübte wie das Adrenalin, wenngleich in geringerer Intensität. Besonders wichtig ist indessen die dem Untersucher zunächst befremdlich erschienene Wirkung des Ergotamins, das einen der Adrenalinwirkung völlig gleichartigen intensiven Effekt hervorruft, der deshalb besonders häufig kontrolliert und immer wieder bestätigt wurde. Dieser Stoff wurde als Tartrat in Konzentrationen von 1 : 10000 bis 1 : 100000 angewendet. Damit ist an sich die Möglichkeit einer Wirkung des Anions in die Diskussion hineingebracht. Die starke Verdünnung schließt eine Anionenwirkung mit großer Wahrscheinlichkeit aus. Die entgegengesetzte Wirkung des Atropinsulfats hat den Einwand noch unwahrscheinlicher gemacht. Dieses Ergebnis war insofern von großem Interesse, als Orzechowski[6] die Auffassung vertritt, daß das Ergotamin unter die Sympathicomimetica zu rechnen ist. Die sympathicuslähmende Wirkung des Ergotamins wird dabei so gedeutet, daß es sich bei den Secalealkaloiden des Ergotamintypus um Stoffe handelt, die eine sehr starke Affinität zu den spezifischen Strukturen der sympathischen Nervenendigungen aufweisen. Sie äußert sich vor allem in einem sehr zähen Haften dieser Stoffe an den Orten ihrer Wirkung. Damit kommt es bei ausreichender Dosierung zu einer substantiellen Blockade der Sympathicusendigungen. Adrenalin muß in diesem Zustand unwirksam sein, da es keine Angriffsmöglichkeiten findet.

[6] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 237—265 (1940).

Es wurde nunmehr eine Reihe von Sympathicomimeticis an den Deckzellen des Meerschweinchennetzes geprüft.

Die untersuchten Stoffe waren:

(−)-1-Phenyl-2-methylaminopropan-1-ol-hydrochlorid = 1-Ephedrin,
(rac.)-1-p-Oxyphenyl-2-methylaminoäthan-1-ol-tartrat = „Sympatol"*.
(rac.)-1-Phenyl-2-aminopropan-sulfat = Benzedrin,
(rac.)-1-p-Oxyphenyl-2-methylaminopropan-sulfat „Veritol"*.
(+)-1-Phenyl-2-methylaminopropan-hydrochlorid = „Pervitin"*.
Ergobasintratrat,
„Tonephin"*.
Cocainhydrochlorid,
„Novocainhydrochlorid"*.

Die Technik der Untersuchungen gestaltete sich folgendermaßen: In Glasschälchen von etwa 5 cm Durchmesser und 1,8 cm Wandhöhe wird eine 3 cm im Quadrat messende Mattglasscheibe gelegt, auf welcher ein konisch nach oben verjüngtes Glasröhrchen von etwa 1 cm Höhe angekittet ist. Der obere freie Rand ist abgeschliffen und in der Flamme glatt geglüht. Ein derartig vorbereitetes Glasschälchen wird bis zum freien Rande des Glasröhrchens mit Ringerlösung gefüllt. Gefäßfreie Teile eines frisch entnommenen Meerschweinchennetzes werden nun über den freien Rand des Glasröhrchens in einer Schicht plan ausgebreitet. Durch diese Anordnung ist die Reaktion der Netzzellen garantiert. Es liegt frei schwimmend, ist vor Austrocknung geschützt und läßt sich sehr gut bei gleichmäßiger Temperatur halten.

Beobachtet wurde mit dem neuen Zeissschen Präpariermikroskop. Es gestattet eine 216fache Vergrößerung. Diese reicht aus, um Vorgänge an den Kernen, Verschiebung des Plasmas u. ä. an dem vorliegenden Objekt zu verfolgen. Man kann hierbei durchfallendes und auffallendes Licht benutzen, da in dem Mikroskop eine Beleuchtungseinrichtung für auffallendes Licht eingebaut ist. In den meisten Fällen wurde durchfallendes Licht verwendet. Als Objekttisch diente dann eine Glasplatte. Auf diese wird das in beschriebener Weise vorbereitete Schälchen gesetzt und von unten her beleuchtet. Die Mattglasscheibe sorgt für eine gleichmäßige und nicht zu helle Beleuchtung. Durch die konische Form des Röhrchens werden störende Reflexe vermieden, das beleuchtete Feld ist größer als der obere, das Netz tragende Rand des Röhrchens. Bei dieser Anordnung fällt jede schädigende Erwärmung des Objektes fort.

* Warenzeichen. Für die freundliche Überlassung der notwendigen Versuchsmengen der einzelnen Substanzen danken wir den Herstellerfirmen: C. H. Boehringer u. Sohn, Ingelheim; I. G. Farbenindustrie A.-G.; Knoll A.-G., Ludwigshafen; E. Merck, Darmstadt; Nordmarkwerke, Hamburg; Sandoz, Nürnberg; Temmlerwerke, Berlin-Tempelhof. Wir werden im folgenden der Kürze halber die geschützten Namen verwenden.

Die Präparation des Netzes erfolgte bei allen Versuchen gleichermaßen in folgender Weise: In Äthernarkose wurde einem Meerschweinchen das große Netz unter möglichster Schonung seines Gewebes entnommen und sofort in eine große, mit körperwarmer Ringerlösung gefüllte Schale gebracht. Von diesem Netz wurden für die Beobachtung kleinere gefäßfreie Stücke mit der Pinzettenschere herausgeschnitten und in den beschriebenen Untersuchungsschälchen, die mit der gleichen Ringerlösung gefüllt waren, beobachtet. Das Netz ist außerordentlich empfindlich. Zerrungen, falsche Temperaturen des Mediums u. ä. rufen sofort Schädigungen hervor, die zu Mißdeutungen bei den Versuchen Anlaß geben. Physiologische Kochsalzlösung ist unbrauchbar, da in ihr das Netz sehr viel schneller abstirbt als in Ringerlösung. Eine Sauerstoffdurchströmung der Lösungen erwies sich als überflüssig. An einem Netz lassen sich je nach Größe 12—20 Einzelversuche vornehmen. Beobachtet man ein in der beschriebenen Weise behandeltes Netzstück, so lassen sich in den ersten 1—2 Stunden keinerlei nachweisbare Veränderungen feststellen. Das Bild der Maschengröße, der Netzbalken des Plasmas und der Kerne, die man an den leichten Vorbuchtungen an den Netzbalken erkennt, ist in dieser Zeit gleichbleibend. Dann treten allmählich die ersten Zeichen einer leichten Gewebsschädigung ein, die man bei einiger Übung sofort feststellen kann. Das gleichmäßige Bild der Netzmaschen verändert sich, wobei die vorwiegend rundlich geformten Netzlöcher vielgestaltig, oft verzerrt erscheinen. Dabei sinkt das Netz häufig ein wenig in das Lumen des Glasröhrchens ein. Auch ein stärkeres Hervortreten der Kerne ist ein Zeichen der beginnenden Gewebsschädigung. Alle Netze, die diese Merkmale aufweisen, wurden von der Beobachtung ausgeschlossen.

Die Lösungen der zu prüfenden Substanzen wurden an das zu untersuchende Netzstück durch vorsichtiges Auftropfen herangebracht. In dem oben beschriebenen Schälchen befanden sich stets 10 ccm Ringerlösung. Es fand also beim Auftropfen von 1 ccm des Pharmakons eine 10fache Verdünnung desselben statt. Dieser 10fache Verdünnungsgrad muß im folgenden bei den angewandten Lösungen in Rechnung gesetzt werden. Auch das Anbringen eines Tropfens ließ sich so vornehmen, daß eine Dehnung und Verlagerung des auf dem Glasröhrchen liegenden Netzstückes nicht eintrat.

Die Reaktion des Meerschweinchennetzes auf die untersuchten Substanzen verläuft unter dem Bilde einer Verdickung der Netzbalken, verbunden mit einer Verengerung der Netzmaschen. Der Vorgang wird durch Abb. 1 und 2 dargestellt. Die Bilder sind Mikrophotogramme von Objekten, die mit Osmiumsäure fixiert und mit Mallory-Hämatoxylin gefärbt wurden. Abb. 1 zeigt ein unbehandeltes Netz. Die Abb. 2 stellt einen Netzabschnitt bei gleicher Vergrößerung nach Einwirkung einer Lösung von Ergotamin 1 : 10000 dar. Der Kontraktionsvorgang der Maschen erfolgt langsam und gleichmäßig, er spielt sich in einer Zeit von

5—10 Minuten ab. Bei starken Konzentrationen von Adrenalin und vor allem Ergotamin verläuft er sehr rasch in einer Spanne von 1—5 Sekunden.

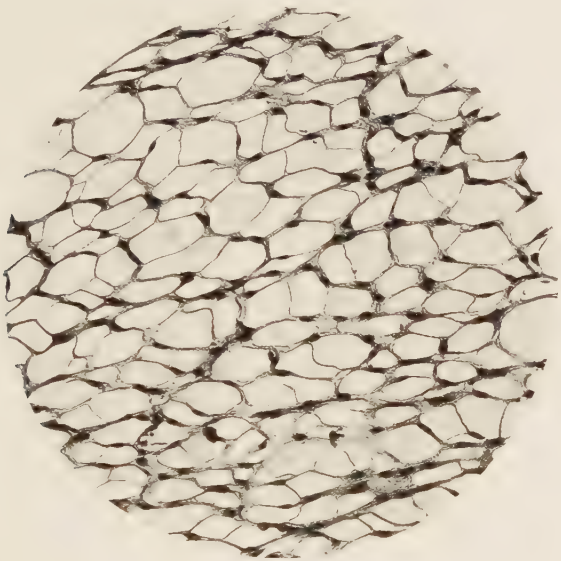


Abb. 1.

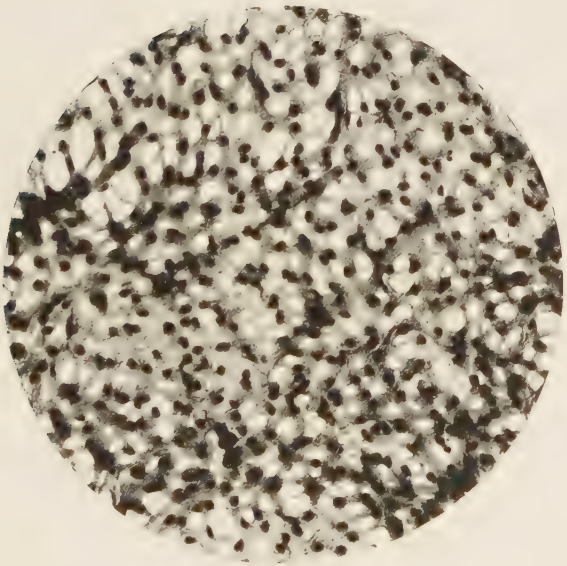


Abb. 2.

Die Grenze der Wirksamkeit des Adrenalins liegt etwa bei 1 : 100000000. Bei Verdünnungen von 1 : 10000000 1 : 100000 werden die Vorgänge

deutlicher. Wenn das Netz nicht völlig flächenhaft ausgebreitet ist, sondern etwas in das Röhrchen hineinhängt, kann der Vorgang auch makroskopisch in einer Hebung des ganzen Häutchens sichtbar werden. Die dabei entwickelte Energie ist jedoch nur gering: feine Eisenstäubchen werden mit angehoben, kleine Glassplitterchen schon nicht mehr. Bei Konzentrationen von 1 : 10000 oder gar 1 : 1000 Adrenalin verläuft die Reaktion stürmisch. Beim Aufbringen nur eines Tropfens dieser Lösung sieht man im Verlaufe von 1—5 Sekunden eine von einer umschriebenen Stelle des Netzes ausgehende Bewegung. Innerhalb weniger Sekunden verkürzt sich das Plasma, das die faserführenden Balken umschließt, so stark, daß die Löcher fast verschwinden. An den kontrahierten Stellen sammeln sich Kerne an. Diese Reaktion erfolgt merkwürdigerweise nicht immer an der Stelle des Auftropfens selbst. Anscheinend gibt es bevorzugte Stellen des Netzes, von denen sich die Reaktion strahlenartig ausbreitet. Eine Erklärung für dieses Phänomen läßt sich zur Zeit nicht geben.

Die Beteiligung der verschiedenen Gewebe des Netzes an der Reaktion ließ sich an gefärbten Präparaten erkennen. Die Netze wurden dazu durch Einwirkung von Osmiumdämpfen oder mit 0,5 -1%iger Osmiumsäure fixiert und mit Chromsäuregemischen (ohne Essigsäurezusatz) nachbehandelt. Gefärbt wurde nach Mallory und mit Heidschem Hämatoxylin. Die gefärbten Präparate zeigten, daß das Plasma der Deckzellen der eigentliche Träger der plasmatischen Zusammenziehung ist. Man erkennt dies besonders deutlich an der Verdichtung der Struktur des kontrahierten Plasmas. Bei gleicher technischer Bearbeitung sind die kontrahierten Stellen stärker gefärbt als das Plasma des unbehandelten Netzes. Bei höheren Adrenalinkonzentrationen (ab 10^{-5}) zeigten die faserführenden plasmatischen Netzbalken eine durch Färbung mit Hämatoxylinen und mit Silberimprägnation darstellbare Querstreifung, die quer zur Verkürzungsrichtung und zur Faserrichtung liegt. (Vgl. dazu Z. f. Zellforsch., Bd. 28.) Die Querstreifung ist an das Plasma gebunden und fehlt an Stellen ohne nachweisbare plasmatische Hülle um die sehr dünnen kollagenen Fäserchen. Solche Stellen sind die beim Meerschweinchennetz vorhandenen außerordentlich zarten Verbindungsstränge zwischen den gröberen Netzbalken. Wenn dem Netz die Freiheit der Bewegung durch Beschickung des freien Randes mit feinen Glasdornen oder durch Verwendung von Glasröhren, deren Schnittfläche nicht glatt geglüht war, genommen wurde, dann trat bei der Kontraktion eine Kontinuitätstrennung des Plasmas auf. Wie an fixierten Präparaten deutlich zu sehen war, zog sich die plasmatische Hülle über die Fasern weg, so daß das Faserbündel freilag, während das Plasma wie ein Strumpf nach beiden Seiten sich zurückzog. Damit konnte angenommen werden, daß das Plasma der Sitz der beobachteten Bewegung ist.

Man kann drei Grade der Wirkungsstärke bei den oben aufgeführten Sympathicomimetica feststellen, die wir als „schwach positiv", „positiv"

und „stark positiv" im folgenden bezeichnen werden. Dabei bedeutet schwach positiv eine langsam einsetzende und langsam verlaufende Kontraktion, bei der die Netzbalken sich nur wenig verdicken und dementsprechend die Netzlöcher nur eine geringe Verengerung erfahren. Als positiv wird eine Reaktion bezeichnet, bei der neben einem schnelleren Ablauf eine so starke Verdickung der Balken eintritt, daß die Netzlöcher bis auf kleine Spalten verengert bzw. verzogen erscheinen. Hierbei wird schon das „Zusammenfließen" des Plasmas und die Wanderung der Kerne sichtbar. Diesem Stadium entspricht etwa die Abb. 2, die man mit Abb. 1 vergleichen möge. Es sind aber hier zwei verschiedene Netzstücke zugrunde gelegt, da die Objekte fixiert waren. Bei stark positiver Reaktion schließlich kontrahiert sich das Netz zu einer fast lückenfreien Platte, es tritt die Querstreifung an den Balken auf und die Kerne wandern dicht gedrängt an den Ort der Wirkung. Diese Reaktion erfolgt meist so schnell, daß sie schon eingetreten ist, bevor 1 ccm der Versuchslösung aufgetropft ist. Sie tritt nach 1—5 Sekunden ein und verstärkt sich allmählich bei weiterem Zuführen des Reizmittels.

Bei diesen Reaktionen muß natürlich stets der Ausgangszustand des Netzes beachtet werden. Offenbar in Abhängigkeit von den Funktionsphasen des Magendarmtraktes erscheinen die Netzbalken einmal geradezu fadenförmig dünn, das andere Mal ein wenig stärker mit etwas breiteren plasmatischen Territorien an den Kreuzungsstellen der Fasern. Die Reaktion ist natürlich im ersten Falle am deutlichsten. Es läßt sich deshalb auch kein absolutes Maß für die Reaktion geben. Unsere Bezeichnungen bedeuten also Reaktionsstufen, die an den genannten morphologischen Merkmalen allein ablesbar sind.

Die Versuche mit den oben zusammengestellten Sympathicomimeticis hatten folgende Ergebnisse: Das rac. p-Sympatol wirkte in 2%iger Lösung in 3 Versuchen zweimal schwach positiv, einmal zweifelhaft. Eine 10%ige Lösung hatte in 3 Versuchen immer eine stark positive Wirkung, d. h. das Netz zog sich schnell und intensiv zusammen. Beim Ephedrin in 5%iger Lösung wurde zweimal ein positives, einmal ein schwach positives Resultat erhalten. Die 10%ige Lösung verursachte jedesmal eine deutliche Kontraktion, die Wirkung war jedoch kaum stärker als die von 5%iger Lösung. In 0,5%iger Lösung blieb das Ephedrin ohne Wirkung. Benzedrin erzeugte in der gleichen Verdünnung in 4 Versuchen eine schwach positive Reaktion, bei Verwendung von 5%iger Lösung trat viermal eine deutliche Kontraktion auf, die sich relativ langsam entwickelte. Das Veritol wirkte schwächer. In 0,5%iger Lösung entwickelte sich keine Reaktion, in 5%iger Lösung war sie einmal schwach positiv, einmal negativ, in 10%iger Lösung zweimal positiv, einmal stark positiv. Pervitin wirkte in 1,5%iger Lösung in 4 Versuchen viermal stark positiv, in 0,15%iger Lösung viermal positiv, in 0,015%iger Lösung in einem Versuche schwach positiv. Es zeigte sich also,

daß die untersuchten Sympathicomimetica am isolierten Netz des Meerschweinchens qualitativ in gleicher Weise wirkten wie das Adrenalin.

Es wurden nunmehr noch eine Reihe von Versuchen mit anderen Substanzen angestellt, deren ephedrinähnliche Wirkung von Orzechowski und Mitarbeitern in früheren Mitteilungen aufgezeigt worden ist. Ergometrin erzeugte in einer Konzentration von 0,02%iger Lösung in 3 Versuchen jedesmal eine positive Wirkung. Beim Tonephin trat auf Zusatz einer Lösung, die 5 Einheiten im ccm enthielt, in 3 Versuchen jedesmal eine stark positive Reaktion ein. Sie entwickelte sich indessen langsamer als beim Adrenalin, wenn dieses in stärkeren Konzentrationen angewendet wurde. Der Endeffekt wurde in etwa 3 Minuten erreicht. In 10facher Verdünnung war die Tonephinreaktion in 3 Versuchen jedesmal positiv. Cocain rief in 1%iger Lösung in 3 Versuchen eine ganz schwache Reaktion hervor. Der Adrenalineffekt wurde durch Cocain nicht verstärkt. Die Wirkung von Novocain war sowohl in 10%iger wie in 1%iger Lösung zweifelhaft. Kontrollversuche mit 5%iger Traubenzuckerlösung zeigten eher einen gegenteiligen entquellenden Effekt.

Somit hat sich auch an der Reaktion der Deckzellen des Meerschweinchennetzes gezeigt, daß die Sympathicomimetica eine gleichartige Wirkung entfalten. Auch aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Reaktion der Secalealkaloide die gleiche ist wie auf einen sympathicuserregenden Stoff. Damit gewinnt zugleich die Erklärung der sympathicolytischen Wirkung dieser Alkaloide als substantielle Blockade der spezifischen Strukturen des Sympathicus erneut an Wahrscheinlichkeit.

Zusammenfassung.

1. An den Deckzellen des Meerschweinchennetzes lassen sich erregende Wirkungen der Sympathicomimetica morphologisch nachweisen.

2. Die Wirkung des Adrenalins auf die Deckzellen des Meerschweinchennetzes wird beschrieben.

3. Qualitativ gleiche Reaktionen wie das Adrenalin erzeugten Sympatol, Ephedrin, Benzedrin, Veritol, Pervitin, Ergobasin, Tonephin und anscheinend auch Cocain.

4. Aus diesem Ergebnis wird die Schlußfolgerung gezogen, daß

a) die periphere Reaktion auf die verschiedenen Sympathicomimetica eine ziemlich gleichförmige ist,

b) die Wirkung der Secalealkaloide vom Typus des Ergotamins die eines Sympathicomimeticums ist,

c) der sympathicolytischen Wirkung eine substantielle Blockade der sympathischen Endigungen zugrunde liegt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster. (Direktor: Prof. L. Lendle.)

Zur Frage der Spezifität der Digitalis-Stoffwechselwirkungen an Herz- und Skeletmuskulatur von Ratte und Meerschweinchen.

Von

H. Genuit und **W. Haarmann**

(unter Mitwirkung von cand. med. Fischer).

(Eingegangen am 26. August 1940).

Die Frage nach dem feineren Wirkungsmechanismus der Digitalisglykoside wird immer auf die Frage nach den der Digitalisreaktion vielleicht zugrunde liegenden Veränderungen im Stoffwechsel des Herzmuskels führen. Zahlreiche Untersuchungen wurden mit dem Ziel der Aufklärung solcher spezifischer Grundwirkungen der Digitalisstoffe angestellt. Dabei wurde naturgemäß immer das Interesse besonders den intermediären Stoffwechselverhältnissen im Kohlehydrathaushalt des Muskels, der eine wesentliche Rolle bei den energetischen Umsetzungen während der Arbeit spielt, zugewendet. Bei dieser Fragestellung wird freilich schon die Voraussetzung gemacht, daß zwischen den Leistungen des Herzens und seinen Stoffwechselbedingungen wechselseitige Beziehungen bestehen müssen, wofür jedoch die bisherigen experimentellen Erfahrungen keinen eindeutigen Beweis liefern.

In neuerer Zeit ist von Freund[1] und von Haarmann[2] mit zahlreichen Mitarbeitern[3] dieser Fragenbereich systematisch bearbeitet worden. In diesen Versuchen konnte zunächst mit dem Warburgschen Verfahren zur Prüfung der Gewebsatmung am Gewebebrei von Herz- und Skeletmuskulatur von Kaninchen und Hund für Strophanthin und andere Glykoside keine sichere Beeinflussung des O_2-Verbrauchs im Bereich „therapeutischer Konzentrationen" gefunden werden; „toxische Konzentrationen" wirkten dagegen hemmend auf die Oxydationsvorgänge. Bei Prüfung der Dehydrierungsprozesse mittels des Thunbergschen Methylenblauverfahrens konnten jedoch unter gewissen Bedingungen auch Stoffwechselsteigerungen im therapeutischen Wirkungsbereich nachgewiesen werden; toxische Konzentrationen hemmten diese gleichfalls.

[1] Freund, H.: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **1932**, S. 73; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 224, 416 (1936). — [2] Haarmann, W.: Biochem. Z. **255**, 103, 142 (1932) und folgende Dissertationen, vgl. [3]. — [3] Frühauf, Th.: Diss. Münster 1932; Averbeck, B.: Diss. Münster 1932; Pötting, K.: Diss. Münster 1933; Tobben, H.: Diss. Münster 1933; Schäfer, K.: Diss. Münster 1934; Leppelmann, B. R.: Diss. Münster 1934.

Weese und Wiegand[4] bestätigten mit der Warburgschen Gewebsschnittmethode die hemmende Wirkung von Strophanthin in Konzentrationen von 1/1000 bis 1/100000 auf den O_2-Verbrauch und auf die anaerobe Glykolyse von Mäuseleber und Hirnrinde des Meerschweinchens. Die glykolytische Reaktion war dabei empfindlicher.

Eine besondere Bedeutung für die Theorie der Digitaliswirkung maß Freund[1] den Beobachtungen von Haarmann und Mitarbeitern[3] über Veränderungen in der anaeroben Milchsäurebildung des Muskelgewebes unter Digitalis bei. Er sieht den therapeutischen Effekt der Digitalisglykoside in einer Verbesserung der Glykoseverwertung, von welcher jedoch nur ein kleiner Teil als Milchsäure erscheint, und ebenso des Glykogens, von dem ein größerer Anteil als Milchsäure wiedergefunden wurde. Im ganzen ist die anaerobe Milchsäurebildung gesteigert. Die toxische Wirkung höherer Glykosidkonzentrationen äußert sich im gegenteiligen Sinne. Als therapeutische Konzentrationen werden nach diesen Versuchen Strophanthin 10^{-8}—10^{-9} betrachtet, als toxische Konzentration 10^{-5}; die Konzentrationen für Digitalisglykoside liegen entsprechend höher.

Salomon und Riesser[5] haben gleichfalls die Einwirkung von Digitoxin und Strophanthin auf die Oxydationsvorgänge geprüft. An verschiedenen Oxydationssystemen im Modellversuch, sowie an der Atmung des isolierten Herzens und am Muskelbrei von Kalt- und Warmblüterherzen konnten sie jedoch keine sichere Beeinflussung des O_2-Verbrauchs beobachten, selbst bei Einwirkung toxischer Konzentrationen, allerdings bei vielleicht unzureichender Beobachtungszeit. Die Autoren vertreten daher die Auffassung, daß die pharmakologische Digitalisreaktion am Herzen nicht im chemischen Sinne zu deuten sei, sondern daß vielleicht physikalisch-chemische Änderungen an der Muskelfaser die Ursache der Änderungen im Kontraktionsablauf des Herzens sind.

Auch B. Weicker[6], der sich in systematischen Untersuchungen mit dem Tätigkeitsstoffwechsel des Herzens (verschiedene Phosphorsäurefraktionen) unter Normalbedingungen, am hypodynamen Herzen und unter therapeutischen Digitalisdosen beschäftigte, kam zu der Feststellung, daß am normalen Herzen überhaupt keine Veränderungen im Chemismus des Muskels nach Digitalisgaben auftreten und daß nur am hypodynamen Herzen unter Digitalis eine Erhaltung der Kontraktionssubstanz Phosphagen, vermutlich auf Grund einer besseren Synthesefähigkeit, erzielt werden kann. Er folgert aus seinen Versuchen, daß die Digitalisstoffwechselwirkung nicht einfach im Sinne chemischer Umsetzungen zu verstehen sei, welche an die Gegenwart von reaktionsfähigen Stoffen gebunden ist. Die Stoffwechselwirkungen seien vielleicht auch mehr mittelbare

[4] Weese, H., u. Wiegand: In „Chemie u. Medizin", Abhandl. aus Med.-Chem. Forsch. I. G. Farben, Bd. II, S. 178 (1934). — [5] Salomon, K., u. O. Riesser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 450 (1935). — [6] Weicker, B.: Ebenda **174**, 383 (1934); **178**, 524 (1935).

Folgen als unmittelbare Wirkungen. Insbesondere sprach er auch kritische Bedenken aus gegen die Verwertung von Versuchen mit Muskelbrei, weil hier die strukturgebundene Abhängigkeit des Stoffwechsels und deren etwaige Beeinflußbarkeit ausgeschaltet sei.

Die Frage nach der Spezifität der Beeinflussung des Muskelstoffwechsels durch Digitaliskörper war gelegentlich einer Untersuchung über die Ursachen der relativen Unterempfindlichkeit der Ratte gegen Digitalisglykoside wieder an uns herangetreten. Genuit[7] hatte bei einer Prüfung der Bindungsbedingung von Strophanthin und Digitoxin am isolierten Rattenherzen keine abweichenden Verhältnisse gegenüber anderen Tierarten gefunden, so daß sich die Annahme einer etwaigen andersartigen Verteilung der Glykoside zwischen dem Herzen und der extrakardialen Peripherie bei der Ratte nicht bestätigte. Die Unterempfindlichkeit des Rattenherzens ist an dieses Organ selbst gebunden und ist erstaunlich groß, so daß z. B. Konzentrationen von Strophanthin 1/60000 keinen Stillstand mehr verursachen, während bei Meerschweinchenherzen diese Grenze bei 1/800000 gelegen ist.

Es ist damals von Genuit[7] die Vermutung ausgesprochen worden, daß die Unterempfindlichkeit des Rattenherzens vielleicht auf Besonderheiten seines Muskelstoffwechsels beruhen könnte. Für eine solche Möglichkeit könnten z. B. frühere, zum Teil unveröffentlichte Beobachtungen von Haarmann[2] sprechen, nach welchen für die Milchsäurebildung aus zugesetztem Glykogen oder Glucose an verschiedenen Organen (Herz, Muskel, Hirn) spezifische Unterschiede bestehen, die aber bei einzelnen Tierarten nicht im gleichen Maße zur Geltung kommen.

Diese Überlegungen waren die Veranlassung, die Beeinflussung des Muskelstoffwechsels von Ratten und Meerschweinchen unter verschiedenen Glykosidkonzentrationen mit den früher verwendeten Methoden vergleichend zu prüfen. Dabei konnte gleichzeitig auch noch einmal die Frage berührt werden, ob die Stoffwechselwirkung der Glykoside eine ursächliche Bedeutung für das Zustandekommen der dynamischen Digitalis-Muskelwirkung besitzt, wie dies Freund[1] angenommen hat, während es Riesser[5] ablehnen mußte. Im Falle einer Kausalbeziehung konnte erwartet werden, daß die Empfindlichkeit des Rattenmuskels auch in seinen Stoffwechselvorgängen wesentlich geringer wäre.

In den Versuchen von Freund, Haarmann und Mitarbeitern war schon bei den vergleichenden Untersuchungen mit Herz- und Skeletmuskulatur sowie gelegentlich auch mit Lebergewebe kein Unterschied in der Empfindlichkeit der Stoffwechselvorgänge gegenüber den Glykosiden festgestellt worden. Aus diesen Ergebnissen kann aber noch nicht unbedingt auf eine „Unspezifität" der Digitalis-Stoffwechselreaktion geschlossen werden. Die Spezifität der Digitalis-Herzwirkung in vivo ist nach unseren

[7] Genuit, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 285 (1938).

heutigen Vorstellungen im Anschluß an Weeses[8] Untersuchungen ja aus der Spezifität der Verteilung der Glykoside zugunsten des Herzens zu erklären. Weiterhin haben mehrfache Untersuchungen über die Wirkung von Strophanthin und Digitoxin auf den Skeletmuskel (vgl. die Literatur bei Lendle in Heffter-Heubners Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk I, S. 237ff.) auch gezeigt, daß bei diesem im Ermüdungszustand oder nach vorausgehender Schädigung gleichfalls fördernde Wirkungen mit Glykosidkonzentrationen erreicht werden können, welche nicht viel größer sind als die therapeutischen Konzentrationen an isolierten Herzen. Mit den hohen toxischen Konzentrationen konnte am künstlich gereizten Muskel auch ein irreversibler Kontrakturzustand ausgelöst werden. Man kann also durchaus von einer digitalisähnlichen Wirksamkeit am Skeletmuskel unter diesen Versuchsbedingungen sprechen, während unter klinischen Bedingungen eine solche „extrakardiale Wirkung" nicht in Frage kommt.

Methodik.

Die Sauerstoffzehrung des Gewebes wurde nach Warburg[9]) bestimmt. Zur Untersuchung gelangte Gewebebrei, der durch feinste Zerschneidung der Organe mit der Schere gewonnen wurde. Um die erforderliche Gewebemenge zu erhalten, wurden jeweils die Organe mehrerer Tiere genommen. Alle Versuche wurden bei einer Thermostatentemperatur von 30° C durchgeführt. Die Manometerfüllung war die von Brodie angegebene Lösung (500 ccm H_2O, 23 g NaCl, 5 g Natr. choleinic. Merck, etwas Thymol). Die Manometergefäße waren mit Luft gefüllt. Die Versuchsansätze enthielten 0,3 g Gewebebrei, 1,7 ccm Phosphatpuffer, $p_H = 7{,}36$, m/15, 1,0 ccm H_2O bzw. Strophanthinlösung. Zur Bestimmung der O_2-Aufnahme wurden die Manometer zunächst $^1/_4$ Std. lang zur Erreichung des Temperaturausgleichs bei offenen Hähnen geschüttelt. Die O_2-Aufnahme wurde sodann für die Dauer von $1^1/_2$ Std. jede halbe Stunde abgelesen, wobei die Manometer wieder auf den Normalpunkt eingestellt wurden.

Die Milchsäurebildung des Gewebes wurde unter anaeroben Bedingungen untersucht. Alle Einzelheiten der Versuchstechnik sind von Haarmann[2]) beschrieben. Die Versuchsansätze hatten folgende Zusammensetzung: 1,0 g Gewebe, 14,0 ccm Phosphatpuffer, $p_H = 7{,}36$, m/15, 5,0 ccm H_2O bzw. 1% Glucose oder 1,0% Glykogen, 5 ccm H_2O bzw. 5,0 ccm Strophanthinlösung. Um die Einwirkung von O_2 auszuschließen, wurden die Versuchsansätze in weithalsigen Gläschen von 60 ccm Inhalt mit der Wasserstrahlpumpe evakuiert und sodann für 3 Std. in das Wasser eines Thermostaten von 37° C gelegt. Die Fermenttätigkeit wurde sodann durch Sublimat-Salzsäure unterbrochen und gleichzeitig das Eiweiß niedergeschlagen. Nach mehrstündigem Stehen wurde von Eiweiß abfiltriert und der Filterrückstand mit verdünnter Sublimat-Salzsäure nachgewaschen. Die überschüssigen Quecksilbersalze im Filtrat werden nach A. Hahn und Fischbach[10] durch Natronlauge bis zum Auftreten von HgO und die die Milchsäurebestimmung störenden Kohlehydrate durch Kupfer-Kalkfällung entfernt*.

[8] Weese, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **135**, 228 (1928); **141**, 329 (1929). — [9] Warburg, O.: Biochem. Z. **100**, 244 (1919). — [10] Hahn, A., u. Fischbach: Z. Biol. **89**, 149 (1930).

* In jüngster Zeit hat O. Riesser [Biochem. Z. **300**, 208 (1939)] anscheinend in Unkenntnis der Arbeit von Hahn u. Haarmann [ebenda **255**, 103 (1932)] das gleiche Verfahren der Entfernung der Hg-Salze empfohlen.

Die Milchsäure selbst wurde nach dem bewährten Verfahren von Friedemann, Cotonio und Shaffer[11] bestimmt. Die Milchsäurewerte in den Tabellen beziehen sich auf die verwendete Gewebemenge in mg/100 g Gewebe.

I. O_2-Verbrauch der Muskulatur.

Eine erste Reihe von Kontrollversuchen ohne Zusatz von Strophanthin diente der Beurteilung des verwendeten Verfahrens. Aus der Streuung der Ergebnisse mit je 5 Manometern konnte die Fehlerbreite abgelesen werden. Tabelle 1 bringt einen Überblick über diese Befunde. Darin ist in den beiden letzten Spalten die durchschnittliche Abweichung von dem errechneten Mittelwert aus je 7 Versuchen unter gleichen Bedingungen angegeben in absoluter Zahl und in Prozent unter Bezug auf den Mittelwert.

Tabelle 1. Kontrollversuche über O_2-Verbrauch des Skeletmuskels. (Mittelwerte aus je 7 Einzelversuchen.)

Nr.	Tierart	Versuchszeit	Mittelwerte in cmm O_2 pro 0,2 g	Durchschnittliche Abweichung	Abweichung in %
1	Ratte	60′	179	± 6	± 3
2	„	30′	62	± 2	± 3
		30′	31	± 2	± 6
		30′	21	± 2	± 10
3	„	30′	78	± 4	± 5
		30′	60	± 5	± 8
		30′	42	± 4	± 10
4	Meerschweinchen	60′	129	± 5′	± 4
5	„	60′	117	± 9′	± 8
6	„	30′	73	± 3	± 4
		30′	75	± 4	± 6
		30′	54	± 4	± 8
7	„	30′	48	± 2	± 4
		30′	51	± 3	± 6
		30′	36	± 3	± 9

Es geht daraus hervor, daß das ausgeübte Verfahren eine hinreichende Genauigkeit besitzt. Die durchschnittlichen Abweichungen vom Mittelwert betragen nur etwa 5–10%. Bei der weiteren Beurteilung der unter Strophanthin und Digitoxin erzielten Abweichungen der O_2-Verbrauchswerte gegenüber den jeweiligen Kontrollversuchen wurde darauf verzichtet, eine genauere statistische Behandlung der Ergebnisse unter Berechnung der „signifikanten Differenz" durchzuführen, weil dafür das Versuchsmaterial nicht groß genug ist. Wir begnügten uns allein mit der Forderung, daß nur Abweichungen gegenüber dem Mittelwert der Kontrollversuche, welche mehr als 10% nach oben oder unten lagen, als Steigerung oder Hemmung der Stoffwechseltätigkeit erörtert werden sollen.

[11] Friedemann, Cotonio u. Shaffer: J. biol. Chem. (Am.) **73**, 335, 359 (1927).

Tabelle 2. O_2-Verbrauch am Skeletmuskel.

Versuchs-Nr.	Tierart	Strophanthin-konzentration	Kontroll-Manometer	Versuchszeit	I	II	III	IV	V	VI	VII	Mittelwerte ohne Strophanthin	Mittelwerte mit Stroph. ther.	Mittelwerte mit Stroph. tox.
1	Ratte	1/100000 in IV, V u. VII	I, II, III u. IV	30′	48	49	52	63	59	54	67	51		63
				30′	41	40	42	41	45	41	44	41		42
				30′	28	26	28	32	33	30	36	28		33
2	„	1/1 Mill. in I u. II 1/50000 in VI u. VII	III, IV, V	30′	50	47	51	52	51	50	48	51	49	49
				30′	45	42	42	42	40	48	46	41	44	47
				30′	34	33	34	31	35	41	40	33	34	41
3	Meer-schwein-chen	1/500000 in III u. IV 1/3 Mill. in V u. VI	I u. II	30′	75	73	68	70	79	80	—	74	79	69
				30′	55	52	46	47	45	46	—	54	46	47
				30′	32	30	31	31	29	30	—	31	30	31
4	„	1/100000 in I—III	IV—VII	30′	62	64	72	82	76	73	78	77		63
				30′	48	46	50	64	60	55	60	59		48
				30′	48	46	47	61	65	52	60	58		47
5	„	1/100000 in V—VII	I—IV	30′	48	48	50	49	49	52	54	49		52
				30′	48	44	40	49	49	52	64	45		55
				30′	19	18	18	17	16	14	20	18		17

Die Versuche mit Strophanthin an der Skeletmuskulatur von Ratten und Meerschweinchen sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Darin sind die Einzelwerte der Atmungsgröße für jedes Manometer (I—VII) während 3 Perioden von je 30 Min. angegeben. Von diesen Manometern dienten jeweils zwei bis drei als Kontrolle ohne Strophanthinzusatz; es wurden dafür in jeder Versuchsreihe wechselnde Manometerpaare verwendet. Die geprüften Glykosidkonzentrationen sind mit Angabe der betreffenden Manometer in der 3. Spalte der Tabelle verzeichnet. Die letzte Spalte der Tabelle bringt die Mittelwerte, wobei für die Strophanthinversuche eine Trennung nach toxischen und therapeutischen Konzentrationen durchgeführt wurde.

Als Ergebnis dieser Zusammenstellung kann folgendes abgelesen werden:

Am Rattenmuskel wurden mit toxischen Konzentrationen zum Teil Steigerungen des O_2-Verbrauchs registriert (Versuch 1 in 1. und 3. Halbstunde und Versuch 2 in 2. und 3. Halbstunde), aber keine Hemmungen der Atmung.

Am Meerschweinchenmuskel wurden mit toxischen Konzentrationen Steigerung in Versuch 5 (2. Halbstunde) beobachtet, dagegen Senkungen in Versuch 3 (2. Halbstunde) und Versuch 4 (1.—3. Halbstunde). Die in Versuch 4 geprüfte therapeutische Konzentration ließ in der 2. Halbstunde vielleicht auch eine Senkung erkennen. Die übrigen 11 Werte zeigen keine sichere Beeinflussung.

Die erzielten Befunde zeigen keine besonders eindrucksvolle Änderung der Stoffwechselgröße, die weit über die Fehlerbreite von $\pm$ 10% hinaus-

ginge. Maximale Abweichungen von 20% wurden nur in Versuch 1 (1. Halbstunde) gefunden. Therapeutische Konzentrationen förderten nicht und toxische Konzentrationen wirkten teils fördernd, teils hemmend. Der Vergleich zwischen Ratte und Meerschweinchen läßt höchstens die Tatsache erkennen, daß auch an dem Rattenmuskel mit den üblichen toxischen Konzentrationen Förderungen des Stoffwechsels auftreten können.

Tabelle 3 bringt die unter gleichen Versuchsbedingungen gewonnenen Ergebnisse mit Herzmuskulatur; die Anordnung ist die gleiche wie in Tabelle 2. Als Befund kann folgendes festgestellt werden:

Tabelle 3. O_2-Verbrauch am Herzmuskel.

Versuchs-Nr.	Tierart	Strophanthin-konzentration	Kontroll-Manometer	Versuchszeit	I	II	III	IV	V	VI	VII	Mittelwerte ohne Strophanthin	mit Stroph. ther.	mit Stroph. tox.
1	Ratte	1/100000 in III u. IV	I u. II	30′	47	46	57	58	62	54	52	47	53	59
		1/500000 „ V		30′	51	49	66	63	67	58	60	50	59	65
		1·3 Mill. in VI u. VII		30′	52	50	66	64	66	58	59	51	59	65
2	„	1/1 Mill. in I u. II	IV—VI	30′	58	64	70	60	60	63	70	62	61	70
		1/50000 in III u. VII		30′	48	48	50	49	49	52	54	51	48	52
				30′	19	18	18	17	16	14	20	16	19	19
3	Meerschweinchen	1/500000 in II u. III	I, IV, VII	30′	42	45	46	47	45	44	45	44	46	
		1/1 Mill. „ V u. VI		30′	39	42	44	39	43	42	38	39	43	
				30′	34	37	40	36	38	39	33	34	39	
4	„	1/500000 in V u. VI	II—IV	30′	45	38	42	39	39	35	40	40	43	38
		1/1 Mill. „ I u. VII		30′	33	32	32	33	35	34	33	32	33	35
				30′	33	32	32	33	34	33	33	32	33	34
5	„	1/50000 in VI u. VII	I. u. II	30′	33	29	36	32	31	29	30	31	32	32
		1/50000 „ III		30′	32	30	36	32	31	34	32	31	32	34
		1/3 Mill. „ IV u. V		30′	23	23	35	25	25	27	28	23	25	30

Am Rattenherzen wirkten therapeutische Konzentrationen fördernd in Versuch 1 (1.—3. Halbstunde) und Versuch 2 (3. Halbstunde). Toxische Konzentrationen wirkten in Versuch 1 und 2 gleichfalls fördernd.

Am Meerschweinchenherzmuskel wirkten therapeutische Konzentrationen fördernd nur in Versuch 4 (3. Halbstunde), sonst schienen sie wirkungslos. Toxische Konzentrationen wirkten nur in Versuch 5 (3. Halbstunde) etwas fördernd, sonst waren sie gleichfalls wirkungslos.

Auch in diesen Versuchen waren die verzeichneten Änderungen kaum außerhalb der Fehlerbreite gelegen. Ferner ist keine Abhängigkeit von der Dosierung erkennbar. Zum Teil wirkten therapeutische und toxische Konzentrationen am gleichen Versuchsmaterial fördernd.

II. Anaerobe Milchsäurebildung.

Bei der Darstellung der Befunde in den folgenden Tabellen 4–7 sind in den verschiedenen Versuchsreihen die unter Strophanthin und Digitoxin erhaltenen Werte jeweils auf die Milchsäurebildung in den Leerversuchen mit alleinigem Zusatz von Glucose oder Glykogen bezogen. In einigen Versuchen wurde die Milchsäurebildung auch ohne besonderen Kohlehydratzusatz ermittelt. Die Zahlenangaben sind zum Teil Mittelwerte aus Doppel- oder Dreifachanalysen. In diesen Fällen sind in der Tabelle die Einzelwerte als Anmerkung beigefügt. Aus diesen Zahlen geht die geringe Streuung der erhaltenen Werte hervor.

Tabelle 4 bringt zunächst die Versuche mit Herzmuskulatur von Meerschweinchen. Im Versuch 1 sind bei 6 Ansätzen mit hohen Strophanthinkonzentrationen nur in 2 Fällen mäßige Verminderungen der Milchsäurebildung gefunden worden. Im Versuch 2 zeigt sich dagegen in der

Tabelle 4. Milchsäurebildung im Herzmuskel des Meerschweinchens.

Vers.-Nr.	Versuchsbedingungen	In mg%			In % des Leerwertes		
		I	II	III	I	II	III
1	Direkte Bestimmung	130	408	400			
	Mit H_2O	440	660	460			
	„ Glucose 0,2 %	550	725	530	100	100	100
	„ g-Strophanthin 1/100000 + Glucose 0,2 %	545	590	530	99	81	100
	„ g-Strophanthin 1/10000 + Glucose 0,2 %	530	600	510	97	83	96
2	Mit H_2O	324					
	„ Glykogen 0,2 %	354			100		
	„ g-Strophanthin 1/100000 + Glykogen 0,2%	408			120		
	„ g-Strophanthin 1:10000 + Glykogen 0,2%	444			125		

Tabelle 5. Milchsäurebildung im Herzmuskel der Ratte.

Vers.-Nr.	Versuchsbedingungen	In mg%			In % des Leerwertes		
		I	II	III	I	II	III
1	Direkte Bestimmung	430	440				
	Mit H_2O	462	470				
	„ Glucose 0,2 %	456	470		100	100	
	„ g-Strophanthin 1/100000 + Glucose 0,2%	462	530		101	113	
	„ g-Strophanthin 1/10000 + Glucose 0,2%	460			101		
	Mit Digitoxin 1/50000 + Glucose 0,2 % ..		570			121	
2	Mit H_2O	400	216	282[1]			
	„ Glykogen 0,2 %	390	258[2]	258[3]			
	„ g-Strophanthin 1/100000 + Glykogen 0,2%	400					
	„ g-Strophanthin 1/10000 + Glykogen 0,2%	400					

[1]) Einzelwerte 288 und 276. — [2]) Einzelwerte 240 und 276. — [3]) Einzelwerte 264 und 252.

Tabelle 6. Milchsäurebildung im Meerschweinchenskeletmuskel.

Versuchs-Nr.	Versuchsbedingungen	In mg% I	II	III	IV	V	In % des Leerwertes I	II	III	IV	V
1	Direkte Bestimmung.....	300	414	354	253[1]						
1a	Mit H_2O (Leerversuch).....	390	522	534	619[2]		100	100	100	100	
	„ g-Strophanthin 1/100000.....	495	450	590			127	86	110		
	1/10000.....	476	414	507			122	80	95		
1b	Mit Glykogen 0,2% (Leerversuch).....	470	536	635			100	100	100		
	Mit g-Strophanthin 1 100000 + Glykogen 0,2%	505	525	596	639		107	96	94	(103)	
	1/10000 + Glykogen 0,2%	590	545	498	609		125	102	78	(98)	
2	Mit H_2O (Leerversuch).....	294[3]									
	„ Glucose 0,2% (Leerversuch).....	410[4]					100				
	Mit g-Strophanthin 1/100000 + Glucose 0,2%	480					117				
	1/10000 + Glucose 0,2%	444					108				

[1]) Einzelwerte 249, 246. — [2]) Einzelwerte 612, 618, 627. — [3]) Einzelwerte 300, 288. — [4]) Einzelwerte 426, 408, 396.

Tabelle 7. Milchsäurebildung im Rattenskeletmuskel.

Versuchs-Nr.	Versuchsbedingungen	In mg% I	II	III	IV	In % des Leerwertes I	II	III	IV
1	Direkte Bestimmung.....	430	568	552	426				
1a	Mit H_2O	540	790	546	564	100	100	100	100
	„ g-Strophanthin 1/100000.....	518	812	522	543	88	103	96	98
	1/10000	468	—	—	510	79	—	—	90
	Mit Digitoxin 1/50000.....	—	816	513	—	—	103	94	—
1b	Mit Glykogen 0,2%.....	1254	1120	663		100	100	100	
	„ g-Strophanthin 1/100000 + Glykogen 0,2%	1280	1030	585		102	92	88	
	1/10000 + Glykogen 0,2%	1216	—	—		97			
	Mit Digitoxin 1/50000 + Glykogen 0,2%	—	1092	633		—	98	15	
2	Mit H_2O.....	564	481[1])						
	„ Glucose 0,2%.....	520	504[2])			100	100		
	„ g-Strophanthin 1/100000 + Glucose 0,2%	480	476			90	94		
	1/10000 + Glucose 0,2%	465	440			89	87		

[1]) Einzelwerte 498 und 464. — [2]) Einzelwerte 510 und 498.

gleichen Strophanthinkonzentration eine ebenso starke Zunahme. Tabelle 5 stellt die Ergebnisse für die Rattenherzmuskulatur zusammen. Auch hier sind keine Abweichungen unter Strophanthin gegenüber den Kontrollbestimmungen erkennbar, nur Digitoxin steigerte die Milchsäurebildung etwas.

Die Ergebnisse der Versuche mit Skeletmuskulatur, welche in reichlicherem Maße zur Verfügung standen, sind in Tabelle 6 und 7 zusammengefaßt. Die Milchsäurebildung des Meerschweinchenmuskels (Tabelle 6) ist nur im ersten Versuchsansatz mit Strophanthin 1/10000 um wenig mehr als 20% erniedrigt. In allen anderen Ansätzen ist die Verminderung geringer oder fehlt oder es trat sogar, selbst in den höchsten Strophanthinkonzentrationen von 1/10000, eine Steigerung bis 27% auf. Eine Konstanz oder eine Beziehung der Wirkung zur Dosierung fehlt völlig.

Das gleiche kann auch über die in Tabelle 7 vorgelegten Versuche mit Rattenmuskulatur gesagt werden. Die Verminderung betrug im Höchstfalle 21%. Die Milchsäurewerte lagen meist um 90—100% der Kontrollen.

Zusammenfassend muß über die Beeinflussung der anaeroben Milchsäurebildung in Skelet- und Herzmuskulatur unter toxischen Strophanthin- und Digitoxinkonzentrationen gesagt werden, daß sich wohl Abweichungen von den Kontrollversuchen ohne Glykosidzusätze ergaben, die auch außerhalb der Streuungswerte der Methodik lagen. Es konnte aber weder eine eindeutige Hemmung oder Förderung, noch eine Beziehung zur Dosierung erkannt werden. Trotz Prüfung sehr hoher Konzentrationen bis 1/10000 war keine Hemmung festzustellen. Unterschiede im Verhalten von Herz- und Skeletmuskulatur oder Unterschiede für die beiden Tierarten bestanden nicht.

III. Schlußerörterung.

Die Ergebnisse unserer Versuchsreihen lassen keinen Schluß auf eine spezifische Stoffwechselreaktion der Digitalisglykoside am Muskelbrei zu. Weder am Herzmuskel noch am Skeletmuskel ließ sich eine von der Dosierung abhängige Beeinflussung des Sauerstoffverbrauchs oder der anaeroben Milchsäurebildung erkennen. Kleine, therapeutische Konzentrationen wirkten nicht sicher fördernd und toxische Konzentrationen nicht eindeutig hemmend. Für die beiden verwendeten Tierarten bestand auch kein spezifischer Unterschied der Wirksamkeit, wie es auf Grund der bekannten Empfindlichkeitsunterschiede ihrer Herzen gegenüber Glykosiden zu erwarten gewesen wäre.

In früheren Versuchen von Freund, Haarmann und Mitarbeitern waren wohl gelegentlich gewisse Einflüsse auf diese Stoffwechselfunktionen nachweisbar gewesen. Bei einer Erweiterung des Versuchsmaterials in den zahlreichen folgenden Dissertationen hatten sich aber doch keine so eindeutigen Ergebnisse gewinnen lassen, daß daraus die Auffassung genügend begründet werden könnte, wonach therapeutische Digitalisgaben die Stoffwechselvorgänge besonders in der Richtung einer verbesserten Kohlehydratverwertung fördern.

Unsere Versuchsergebnisse mit Strophanthin lassen eine starke Streuung der Befunde erkennen. Diese ist aber nicht durch die Fehler-

haftigkeit der verwendeten Methodik bedingt, denn die Streuung der Einzelanalysen und der Kontrollversuche ohne Glykosidzusatz ist durchaus gering und in normalen Grenzen. Der Zusatz der Glykoside machte sich am Gewebsstoffwechsel wohl geltend, aber nicht im spezifischen Sinne. Es traten Steigerungen und Senkungen unabhängig von den Dosierungsbedingungen auf. Selten lagen die Abweichungen mehr als 25% über oder unter den Kontrollwerten. Wie diese unspezifische Reaktion zu erklären ist, bleibt ungewiß. Man mag vielleicht daran denken, daß nach Druckreys[12] Erfahrungen über den „Stoffwechsel des geschädigten Gewebes" auch Schädigungen erst vorübergehend eine Stoffwechselerhöhung auslösen können. Es ist wohl sicher, daß die obenerwähnten Glykosidkonzentrationen Schädigungen setzen müssen, weil sie die Permeabilität der Zellmembranen stark hemmen können. Vielleicht sind die wechselnden Befunde aus dem verschiedenen Grad der Schädigung und dem zeitlichen Abstand zu verstehen, wobei mäßige Steigerungen und Hemmungen des Stoffwechsels in verschiedenem Ausmaß interferieren können.

Nach unseren Ergebnissen müssen wir also zu der einleitend erhobenen Frage nach der primären Stoffwechselreaktion eine ablehnende Stellung nehmen. Zum mindesten läßt sich mit der einfachen Prüfung der Stoffwechselbedingungen am Gewebebrei nicht der Nachweis führen, daß die dynamische Digitaliswirkung am insuffizienten Herzen auf eine primäre Besserung seiner Stoffwechsellage beruht (vgl. dazu auch die erwähnte Stellungnahme von Weicker). Nun ist neuerdings gerade von Gremels[13] in einer sehr bedeutsamen Untersuchung über den Kohlehydratstoffwechsel des insuffizienten Herzens und des digitalisbehandelten Herzens die Auffassung begründet worden, daß der dynamischen Insuffizienz eine „energetische Insuffizienz" mit erhöhtem Sauerstoffverbrauch und schlechter Kohlehydratausnutzung bei vermindertem „Wirkungsgrad" vorausgehe und daß die Verbesserung der Herzleistung durch Digitalis mit einer Förderung der Stoffwechselverhältnisse, also mit einer primären Beseitigung der energetischen Insuffizienz beginne. Diese Darstellung ist sehr bestechend und scheint auch methodisch gut begründet. Trotzdem läßt sich vielleicht auch gegen diese Auffassung noch ein wichtiges Argument vorbringen, worauf uns Prof. Lendle aufmerksam machte: Die Förderung der Kohlehydratausnutzung und die Hemmung des Sauerstoffverbrauchs, welche nach Gremels die Leistungssteigerung des insuffizienten Herzens verursachen sollen, sind die Folge einer unter Digitalis auftretenden Sensibilisierung für den Vagus- und Insulineinfluß. Die Bedeutung des Vagus für die Verhütung der energetischen Insuffizienz wurde auch eingehend nachgewiesen. Nun läßt sich die Vaguswirkung durch eine Atropinisierung

[12] Druckrey, H.: Naturw. **23**, 796 (1935). — [13] Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 623 (1940).

jederzeit ausschalten*. Es ist aber aus zahlreichen Versuchen bekannt, daß die therapeutische und toxische Digitaliswirksamkeit sich durch eine Atropinvorbehandlung nicht beeinflussen läßt. Eine primäre Digitaliswirkung auf die Kontraktilität des Muskels braucht aber, da sie nicht wie die Stoffwechselwirkung über den Vagus verläuft, auch nicht von Atropin gehemmt zu werden. Mit dieser kritischen Einwendung soll selbstverständlich nichts gegen die vielfach erwiesene Digitaliswirkung auf den Vagus gesagt werden. Wir möchten nur der von Gremels als primär angenommenen Digitalisstoffwechselwirkung über den Vagus nicht die gleiche Bedeutung zuschreiben.

* Es besteht nach persönlicher Mitteilung von Prof. Gremels jedoch die Möglichkeit, daß die stoffwechselwirksame Vagusfunktion im Unterschied zu den sonstigen Vaguswirkungen im vegetativen Nervensystem nicht durch Atropin aufgehoben werden kann. Experimentell ist diese Frage anscheinend aber noch nicht geklärt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg.

Zur Frage der Entgiftung der Lokalanaesthetica insbesondere durch Adrenalin.

Von

H.-A. Oelkers.

(Eingegangen am 28. September 1940.)

Bei orientierenden, z. T. gemeinsam mit F. Curtze[1] durchgeführten Untersuchungen über die Möglichkeit, die Giftigkeit lokalanaesthesierender Mittel zu beeinflussen, stellte es sich heraus, daß von den hierfür in der Literatur empfohlenen Arzneimittelgruppen – Hypnotica, Spasmolytica, Analeptica — nur die letzteren eine Herabsetzung der tödlichen Dosen zu bewirken vermögen. So ließ sich insbesondere durch kleine subcutane Cardiazolgaben eine Entgiftung des Novocains erzielen, wenn auch die Erfolge nicht ganz so gut waren wie bei den Versuchen von Zipf und Hoppe[2]. Es dürfte dies in der Hauptsache daran liegen, daß die von diesen Autoren als sicher tödlich angegebene Novocaindosis, 1,0 mg pro g Maus, bei unseren Versuchen auch ohne Behandlung noch von 25% der Tiere überlebt wurde. Durch eine Cardiazolbehandlung in den von Zipf und Hoppe angegebenen Dosen ließ sich die Zahl der diese Dosis überlebenden Tiere zwar auf 50% erhöhen, doch wurde die für unsere Tiere sicher tödlich wirkende Novocainmenge (1,2 mg pro g) durch subcutane Cardiazolgaben (0,0001 0,0004 mg pro g) nur unwesentlich entgiftet. In Übereinstimmung mit den Befunden von Zipf und Hoppe fand sich bereits nach Verabfolgung wenig höherer Cardiazolgaben eine Giftigkeitssteigerung des Novocains (beschleunigter Todeseintritt).

Da sich die Novocainvergiftung nach der subcutanen Injektion von 1,2 mg pro g Maus $^1/_2$–2 Stunden hinzuziehen pflegt, so wurden die von Zipf und Hoppe empfohlenen kleinen Cardiazoldosen alle 30 Minuten subcutan injiziert und hiermit etwas bessere Ergebnisse erhalten als mit der einmaligen Injektion. Die folgenden Tabellen I und II geben diese Versuche wieder. Zu den Toxizitätsbestimmungen wurden weiße Mäuse mit einem Durchschnittsgewicht von 16 g benutzt. Die verwendete Novocainlösung war 4%ig und wurde stets frisch hergestellt.

Ein ähnliches Ergebnis wie mit Cardiazol wurde in weiteren Versuchen mit Lobelin (0,002—0,003 mg g stündlich subcutan) erhalten. Etwas weniger günstig waren die Erfolge mit Coramin und Coffein. Mit Kampfer konnte die Zahl der die sonst tödlich wirkende Novocaindosis überlebenden

[1] Curtze, F.: Dissertation Hamburg 1938. — [2] Zipf, K., u. H. Hoppe: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 67 (1936).

Tabelle 1.

Novocain (4%ig) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,4	6	6	100
0,5	8	8	100
0,6	20	19	95
0,7	20	17	85
0,8	20	13	65
0,9	20	5	25
1,0	20	5	25
1,2	10	1	10

Tabelle 2.

Novocain (4%ig) mg/g	Cardiazol ($^1/_2$ stündlich) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
			Anzahl	%
0,8	0,0002	10	8	80
0,8	0,0004	10	9	90
0,9	0,0004	8	4	50
1,0	0,0002	8	4	50
1,0	0,0004	10	6	60
1,2	0,0004	10	2	20

Tiere deutlich heraufgesetzt werden, wenn er (zu 1% in Olivenöl gelöst) in einer Dosis von 0,05 mg/g bereits eine Stunde vor der Novocaingabe injiziert wurde. Die Vorbehandlung mit Kampfer bewirkte außer der Hemmung der Atemlähmung auch eine auffällige Herabsetzung der krampfmachenden Wirkung des Novocains. Diese Wirkung ist jedoch anscheinend für das Endergebnis der Novocainvergiftung nicht so wichtig wie die Anregung der Atemtätigkeit, denn eine Entgiftung der tödlichen Novocaindosis durch Antispasmodica (Papaverin, Octin, Natriumnitrit), die auf Grund der Befunde von Eichholtz und Kirsch[3] bei der Cocainvergiftung versucht wurde, gelang nicht. Es trat zwar eine deutliche Abschwächung der Krampfwirkung des Novocains ein (nicht nach Natriumnitrit), doch überlebten nur wenige Tiere. Ganz ähnlich verliefen Versuche mit den Schlafmitteln Paraldehyd, Chloralhydrat, Trional und Luminalnatrium. Kombinationen von Luminalnatrium (0,02 mg/g) und Cardiazol (0,0004 mg/g) erhöhten dagegen die Zahl, der die sonst tödlich wirkenden Novocaindosis überlebenden Mäuse ein wenig.

Alle diese Versuche, die z. T. von F. Curtze[1] ausführlich geschildert wurden, erscheinen mithin wenig befriedigend, zumal die wechselnde individuelle Empfindlichkeit der Versuchstiere gegen Novocain die Beurteilung der Ergebnisse erschwert. Sicherlich können bei Verwendung einer zu geringen Zahl von Versuchstieren leicht entgiftende Wirkungen

[3] Eichholtz, F., u. Th. Kirsch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 674 (1937).

des einen oder anderen Mittels vorgetäuscht werden. Hierauf dürfte eine nicht geringe Zahl der vielfach einander widersprechenden Mitteilungen über Giftigkeitsminderungen oder -steigerungen von lokalanaesthesierenden Mitteln durch die verschiedenartigsten Pharmaca zurückzuführen sein.

In der Praxis wird Novocain ebenso wie die anderen gebräuchlichen Lokalanaesthetica so gut wie ausschließlich zusammen mit Suprarenin verwendet. Es wurde daher gemeinsam mit H. Deichmann[4] in weiteren Versuchsreihen geprüft, wieweit es möglich ist, durch die obengenannten Mittel eine Giftigkeitsminderung von Novocain-Suprareningemischen zu bewirken. Diese Versuche, die ebenfalls an weißen Mäusen vorgenommen wurden, zeigten ähnlich wie die mit reinen Novocainlösungen eine günstige Wirkung kleiner Dosen von Cardiazol (0,0004 mg/g Maus 5 und 20 Minuten nach der Novocain-Suprareningabe) und auch von Coramin (0,0005 mg/g). Lobelin und Coffein hatten nur einen geringen Einfluß auf den Ausgang der Vergiftung. Die subcutane Injektion von Luminalnatrium (0,03 mg/g 5—10 Minuten vor der Novocain-Adrenalininjektion) führte zu einer fast völligen Unterdrückung der Krämpfe, vermochte aber den Tod der Tiere nicht zu verhindern.

Bei diesen Versuchen fiel auf, daß durch den Suprareninzusatz eine nicht unbeträchtliche Giftigkeitssteigerung des Novocains bewirkt wird. So zeigt die folgende Tabelle 3 Versuche mit einer 4%igen Novocainlösung, die den handelsüblichen Zusatz von 0,00005 g Suprarenin. hydrochloricum pro ccm enthielt.

Tabelle 3.

Novocain (4%ig + Suprarenin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,3	10	8	80
0,4	20	14	70
0,5	20	9	45
0,6	40	7	18
0,7	12	0	0

Aus dem Vergleich der Tabelle 3 mit der Tabelle 4 geht hervor, daß die Giftigkeit der 4%igen Novocainlösung durch den handelsüblichen Suprareninzusatz (5 mg%) bei subcutaner Injektion nahezu verdoppelt wird. Weitere Versuchsreihen, die von Deichmann[4] ausführlich beschrieben wurden, zeigten, daß eine Erhöhung des Suprareninzusatzes auf das Doppelte oder das Vierfache des üblichen eine weitere, allerdings nicht mehr so starke Giftigkeitszunahme des Novocains bedingt, während Herabsetzung des Suprareningehaltes auf die Hälfte die Verträglichkeit des Novocain-Adrenalingemisches merklich erhöht.

[4] Deichmann, H.: Dissertation Hamburg 1938.

Um zu prüfen, ob die den Mäusen bei diesen Versuchen mit dem Novocain injizierten Suprareninmengen an sich bereits toxisch wirken, wurden Toxizitätsbestimmungen mit reinen Lösungen von Suprareninum hydrochloricum vorgenommen. Hierbei ergab sich, daß bei Verwendung der handelsüblichen 0,1%igen Lösung 0,004—0,006 mg Suprareninhydrochlorid pro g Maus als mittlere und 0,009—0,01 mg pro g Maus als sicher letale Dosis anzusehen sind (Tabelle 4).

Tabelle 4.

Suprareninum hydrochloricum mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,003	10	10	100
0,004	24	10	42
0,005	16	9	56
0,006	12	5	42
0,007	12	2	17
0,008	12	2	17
0,009	12	1	8
0,01	10	0	0

Benutzt man stärker verdünnte Suprareninlösungen, so nimmt die Giftigkeit etwas ab, so daß bei Verwendung einer 5 mg%igen Lösung, d. h. also der gleichen Konzentration, die in der üblichen 4%igen Novocainlösung enthalten ist, die mittlere letale Dosis 0,007 mg und die sicher letale Dosis 0,012 Suprareninhydrochlorid pro g Maus beträgt.

Die Vergiftungserscheinungen entsprachen bei diesem Versuch im wesentlichen den von Führer[5] geschilderten: Unruhe, Krämpfe, Lähmungserscheinungen, Atemstillstand traten nacheinander auf und führten nach hohen Dosen innerhalb von $^1/_2$—2 Stunden, nach den kleineren oft erst nach mehreren Stunden (bis zu 36 Stunden) zum Tode. Tiere, die sich einige Stunden nach der Adrenalingabe wieder erholt hatten, blieben am Leben (Beobachtungsdauer 10 Tage), während Führer[5] angibt, daß bei seinen Versuchen ein Teil dieser Tiere nach anscheinend völliger Wiederherstellung am dritten oder vierten Tag nach der Einführung des Giftes hinfällig wurde und unter allmählichem Nachlassen der Atmung zugrunde ging.

Da bei der Verwendung einer 4%igen Novocainlösung mit einem Zusatz von 5 mg% Suprareninhydrochlorid pro 0,1 mg Novocain 0,000125 mg Suprareninhydrochlorid injiziert werden, so wird hier die Giftigkeitszunahme des Novocains durch an sich noch völlig ungiftige Suprareninmengen verursacht. Mit der mittleren tödlichen Dosis des Gemisches wurden mit 0,5 mg Novocain 0,000625 mg Suprareninhydrochlorid, d. h. etwa 10% der mittleren letalen Suprareninhydrochloriddosis injiziert.

[5] Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **166**, 437 (1933).

Der Befund einer Giftigkeitszunahme von Novocain durch den Adrenalinzusatz bei subcutaner Injektion überraschte außerordentlich. Zwar haben Taubmann und Jung[6], Eichholtz und Hoppe[7], Keil und Rühling[8] eine stark erhöhte Giftigkeit von lokalanaesthesierenden Mitteln durch Adrenalinkörper bei intravenöser, Hazard und Mangeot[9] bei intraperitonealer Injektion nachgewiesen, doch wurde nach den viel zitierten Untersuchungen von Braun[10] angenommen, daß der Adrenalinzusatz bei subcutaner Injektion eine Hemmung der Resorption des Anaestheticums und damit auch eine Entgiftung des betreffenden Mittels herbeiführen muß.

Eine Durchsicht der Mitteilung Brauns[10] zeigt allerdings, daß er eine Herabsetzung der Giftigkeit der von ihm geprüften Cocain-Adrenalingemische bei subcutaner Injektion nicht feststellen konnte. Er gibt vielmehr ausdrücklich an, daß die Versuche mit Injektion von Cocain-Adrenalingemischen unter die Rückenhaut von Kaninchen wechselnd ausfielen. Eine Entgiftung von Cocain durch Adrenalin konnte er nur erreichen, wenn er bei Kaninchen zunächst 1 ccm Suprareninlösung (1 : 1000) durch eine längere Hohlnadel unter die rasierte Kopfhaut, so daß die Spitze der Kanüle zwischen den Augen lag, injizierte, die Kanüle liegen ließ und 5—10 Minuten später durch die gleiche Kanüle 100 mg Cocain/kg Körpergewicht in 10—20%iger Lösung verabfolgte. Von 4 so behandelten Tieren starb keines, während von 3 Kontrolltieren, bei denen die gleiche Adrenalindosis unter die Rückenhaut und die gleiche Cocaindosis unter die Kopfhaut injiziert wurden, ein Tier starb, die beiden anderen aber die Vergiftung ebenfalls überstanden.

Die Entgiftung des Cocains ist also auch bei dieser Versuchsanordnung, d. h. also bei Vorbehandlung des Gewebes, in das die Cocainlösung gebracht wird, mit einer verhältnismäßig hoch konzentrierten Adrenalinlösung, anscheinend nicht sehr hochgradig.

Trotzdem ist der Befund Brauns, daß der Zusatz von Adrenalin zu Cocainlösungen bei subcutaner Injektion keine Giftigkeitsabnahme des Cocains bedingt, schwer verständlich, da im allgemeinen angenommen wird, daß Cocain die Wirkung des Adrenalins auf die Gefäße noch erheblich verstärkt (vgl. z. B. Fröhlich und Loewi[11], Sternberg[12], Fischel[13], Günther[14], Schaumann[15] u. a.) und somit die Resorption beider Stoffe eine besonders starke Verlangsamung erfahren sollte (vgl. aber auch

[6] Taubmann, G., u. G. Jung: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **156**, 18 (1930). — [7] Eichholtz, F., u. G. Hoppe: Ebenda **173**, 687 (1933). — [8] Keil, W., u. J. Rühling: Ebenda **179**, 415 (1936). — [9] Hazard, R., u. A. Mangeot: J. Pharmacie VIII, 28, 375 (1938). — [10] Braun: Arch. Chir. **69**, 541 (1903). — [11] Fröhlich, A., u. O. Loewi: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **62**, 159 (1909). — [12] Sternberg, H.: Ebenda **100**, 112 (1923). — [13] Fischel, R.: Z. exper. Med. **4**, 362 (1916). — [14] Günther, G.: Zschr. Biol. **66**, 280 (1916). — [15] Schaumann, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **138**, 208 (1928).

Börner[16], Amsler und Pick[17], Brodie und Dixon[18], Rentz[19]). Allerdings fanden auch Hatcher und Eggleston[20] sowie besonders Thies[21] bei ihren Tierversuchen nur einen sehr geringen bzw. keinen entgiftenden Einfluß des Adrenalins auf die Cocainwirkung bei subcutaner Injektion.

In Anbetracht der Wichtigkeit einer Klärung dieser Frage schien es trotzdem notwendig, nochmals Versuche über die Möglichkeit, Cocain bei subcutaner Injektion durch Zugabe von Suprarenin zu entgiften, vorzunehmen. Auch für diese Versuche dienten weiße Mäuse mit einem Gewicht von 14—18 g. Die benutzten Cocainhydrochloridlösungen waren 0,5 und 1%ig. Bei den Versuchen mit Adrenalinzusatz betrug dieser 1—10 mg%. Da diese Versuche alle gleichartig ausfielen, so seien hier (Tabelle 6) nur die mit einem Suprareninzusatz von 5 mg% wiedergegeben, bei denen noch am ehesten eine ganz leichte Entgiftung des Cocains zu bemerken war.

Tabelle 5.

Cocainhydrochlorid mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,10	10	4	40
0,125	10	6	60
0,15	10	4	40
0,175	10	2	20

Tabelle 6.

Cocainhydrochlorid (+ Adrenalin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,10	10	6	60
0,125	10	4	40
0,15	10	5	50
0,175	10	3	30

Die Versuche, die in den Tabellen 5 und 6 wiedergegeben sind, zeigen mithin in Bestätigung der Ergebnisse von Braun[10], Hatcher und Eggleston[20] und Thies[21] an Kaninchen und Katzen, daß auch bei Mäusen Cocain durch den Zusatz von Adrenalin bei subcutaner Injektion nicht oder doch nur ganz unerheblich entgiftet wird.

Bei den Versuchen fiel allerdings auf, daß die Vergiftungssymptome (Unruhe, Krämpfe, Lähmungen) sich bei den Tieren, die die adrenalinhaltige Cocainlösung erhalten hatten, etwas langsamer entwickelten, und daß die Krampfanfälle weniger heftig waren als bei den anderen Tieren.

[16] Börner, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **79**, 218 (1916). — [17] Amsler, C., u. E. P. Pick: Ebenda **85**, 61 (1920). — [18] Brodie u. W. Dixon: J. physiol. (Brit.) **30**, 476 (1904). — [19] Rentz, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **144**, 311 (1929). — [20] Hatcher, R., u. C. Eggleston: J. Pharmacol. (Am.) **8**, 385 (1916); **13**, 433 (1919). — [21] Thies, J.: Inaug.-Dissertation Leipzig 1903; Dtsch. Z. Chir. **74**, 434 (1904).

Die Zahl der Überlebenden war indessen trotzdem bei beiden Versuchsreihen ziemlich gleich groß. Die durch den Adrenalinzusatz bewirkte Giftigkeitszunahme des Cocains (vgl. die Befunde bei intravenöser Injektion[6,7,8]) läßt sich mithin durch die bei subcutaner Injektion durch Adrenalin bewirkte Resorptionshemmung nur eben kompensieren.

Cocain und Novocain unterscheiden sich also bei subcutaner Injektion in ihrem Verhalten gegen Adrenalin sehr deutlich, denn während die Giftigkeit des Cocains durch Adrenalin bei subcutaner Injektion praktisch nicht beeinflußt wird, wird die des Novocains beträchtlich heraufgesetzt. Der Grund hierfür dürfte in der dem Novocain im Gegensatz zum Cocain fehlenden gefäßverengernden Wirkung zu suchen sein). Nach verschiedenen älteren Mitteilungen soll zwar Novocain ähnlich, aber schwächer wie Cocain die Gefäße für die Adrenalinwirkung sensibilisieren (vgl. z. B. Sternberg[12], (Møller[22], Wiemann[23]), doch dürfte es nach dem Ausfall der oben beschriebenen Toxizitätsprüfung wahrscheinlich sein, daß die Befunde derjenigen Autoren (vgl. z. B. Schaumann[15], Rentz[19], Borssuk[24]) zutreffen, die bei Durchströmungsversuchen an Gefäßpräparaten einen Antagonismus des Novocains gegen die Adrenalinwirkung feststellen konnten. Auch die anderen Ersatzmittel des Cocains sollen die gefäßverengernde Wirkung des Adrenalins abschwächen.

Es schien daher interessant, zu prüfen, wie es sich mit der Giftigkeit anderer Lokalanaesthetica bei Zusatz von Adrenalin bei subcutaner Injektion verhält. Eigenartigerweise liegen zu dieser Frage nur sehr wenige Untersuchungen vor, die außerdem meist nur an verhältnismäßig wenigen Tieren vorgenommen wurden.

So kam H. Langecker[25] zu der Annahme, daß 0,5 mg Novocain pro g Maus bei subcutaner Injektion als letale Dosis anzusehen ist, weil die drei so behandelten Versuchstiere eingingen. Nach eigenen Erfahrungen ist das bei dieser Dosis nur sehr selten der Fall (vgl. auch Zipf und Hoppe[2], Führer[5] u. a.). Von den 6 Mäusen, die adrenalinhaltige (0,5 und 2 mg%) Novocainlösungen in einer Dosis von 0,6 mg Novocain pro g Körpergewicht erhalten hatten, überlebten 5, und da Kontrollversuche mit dieser oder einer höheren Dosis einer adrenalinfreien Novocainlösung nicht vorgenommen wurden, schließt Langecker aus diesen Befunden auf eine Entgiftung des Novocains durch Adrenalin.

Bei Versuchen mit Pantocain an einer nicht näher angegebenen Zahl von Kaninchen beobachteten Fußgänger und Schaumann[26] eine starke Herabsetzung der Giftigkeit bei subcutaner Injektion durch den Zusatz von Adrenalin (1—10 Tropfen auf 10 ccm, d. h. etwa 0,5—5 mg%).

[22] Møller, O. K.: Arch. internat. Pharmacodynam. **57**, 67 (1937). — [23] Wiemann, O.: Z. Chir. **179**, 388 (1923). — [24] Borssuk, G.: Dissertation Tübingen 1935. — [25] Langecker, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **129**, 202 (1928). — [26] Fußgänger, R., u. O. Schaumann: Ebenda **160**, 53 (1931).

K. O. Møller[27] stellte bei Meerschweinchen eine deutliche Abnahme der Gilftigkeit des Percains durch Adrenalinzusatz bei subcutaner Injektion fest. Die mittlere letale Dosis, die nach den Versuchen an 10 Tieren für Percain (0,2%ige Lösung) 16—17 mg/kg beträgt, stieg durch den Adrenalinzusatz (1 mg%) auf etwa 40 mg/kg an.

Über weitere Tierversuche zur Frage der Giftigkeitsbeeinflussung von Lokalanaesthetica durch Adrenalin bei subcutaner Injektion konnte in der zugänglichen Literatur nichts gefunden werden.

Unsere Versuche wurden wie die bisherigen an weißen Mäusen vorgenommen. Das Gewicht der Tiere betrug 13—21 g, doch wurde darauf geachtet, daß zu jedem Vergleich zwischen adrenalinhaltiger und adrenalinfreier Anaestheticumlösung Tiere von möglichst gleichem Gewicht herangezogen wurden. Die erforderlichen Lösungen wurden jedesmal frisch hergestellt. Der jeweils benötigte Adrenalinzusatz wurde unmittelbar vor Gebrauch der betreffenden Lösung vorgenommen. In Hinblick auf die Befunde von Sievers und Mc Intre[28] über den Einfluß der Versuchstemperatur auf die Giftigkeit des Novocains wurde auf eine gleichmäßige Raumtemperatur während der Versuche besonders geachtet und der Vergleich zwischen adrenalinhaltigen und adrenalinfreien Anaestheticumlösungen außerdem stets am gleichen Tage vorgenommen. Geprüft wurden folgende Anaesthetica: Psicain, Tropacocain, β-Eucain, Alypin, Tutocain, Larocain, Stovain, Pantocain und Percain. Die folgenden Tabellen 7—15a zeigen die Ergebnisse.

Aus den Tabellen 7- 15a geht hervor, daß die Mehrzahl der untersuchten Lokalanaesthetica durch den Zusatz von Adrenalin auch bei subcutaner Injektion deutlich giftiger wird. Besonders stark ist dies bei Psicain, β-Eucain, Alypin und Tutocain der Fall. Hier wird ähnlich wie beim Novocain die Giftigkeit durch den Adrenalinzusatz ungefähr ver-

Tabelle 7.

Psicain (0,5%ig) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,15	6	6	100
0,20	6	6	100
0,22	6	6	100
0,25	8	8	100
0,275	8	6	75
0,30	9	3	33
0,325	10	4	40
0,35	8	1	13

Tabelle 7a.

Psicain (0,5%ig + Adrenalin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,15	12	8	67
0,175	8	3	38
0,20	8	1	13
0,22	8	2	25
0,25	8	1	13
0,275	6	0	0

[27] Møller, K. O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **170**, 312 (1933). — [28] Sievers, R. F., u. A. R. Mc Intre: J. Pharmacol. (Am.) **59**, 90 (1937).

Tabelle 8.

Tropacocain (2 %ig) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,3	6	6	100
0,4	6	6	100
0,5	6	6	100
0,6	6	6	100
0,7	8	7	88
0,8	8	8	100
0,9	8	8	100
1,0	10	8	80
1,2	14	9	64
1,5	10	2	20

Tabelle 8a.

Tropacocain (2 %ig + Adrenalin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,3	4	4	100
0,4	6	6	100
0,6	14	9	64
0,8	8	6	75
0,9	12	6	50
1,0	8	4	50
1,2	8	0	0

Tabelle 9.

β-Eucain (2 %ig) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,4	8	8	100
0,6	12	10	83
0,7	8	5	63
0,8	14	5	37
0,9	8	2	25
1,0	8	0	0

Tabelle 9a.

β-Eucain (2 %ig + Adrenalin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,2	8	8	100
0,3	8	2	25
0,4	8	2	25
0,5	6	0	0
0,6	6	0	0

Tabelle 10.

Alypin (2 %ig) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,25	10	10	100
0,275	8	8	100
0,30	12	10	83
0,325	8	2	25
0,35	8	4	50
0,375	6	0	0
0,40	6	0	0

Tabelle 10a.

Alypin (2 %ig + Adrenalin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,15	8	8	100
0,175	8	5	63
0,20	12	1	8
0,25	8	0	0
0,275	4	0	0

Tabelle 11.

Tutocain (1 %ig) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,10	8	8	100
0,15	15	13	87
0,18	10	10	100
0,20	15	12	80
0,25	10	4	40
0,30	10	0	0

Tabelle 11a.

Tutocain (1 %ig + Adrenalin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,1	8	8	100
0,12	10	4	40
0,15	10	2	20
0,18	10	1	10
0,20	8	0	0
0,25	8	0	0

Tabelle 12.

Larocain (1 %ig) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,10	8	8	100
0,15	10	10	100
0,20	12	10	83
0,25	8	8	100
0,30	14	10	72
0,40	8	0	0
0,50	8	0	0

Tabelle 12a.

Larocain (1 %ig + Adrenalin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,10	8	7	88
0,15	8	6	75
0,18	6	4	67
0,20	14	9	64
0,25	6	1	17
0,30	8	0	0
0,40	4	0	0

Tabelle 13.

Stovain (1 %ig) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,30	10	9	90
0,35	12	5	42
0,40	8	0	0

Tabelle 13a.

Stovain (1 %ig + Adrenalin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,20	8	8	100
0,30	8	3	38
0,35	8	0	0
0,40	4	0	0

Tabelle 14.

Pantocain (0,3 %ig) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,036	8	8	100
0,045	8	7	88
0,054	10	2	20
0,060	12	0	0

Tabelle 14a.

Pantocain (0,3 %ig + Adrenalin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,036	8	8	100
0,045	8	8	100
0,060	20	20	100
0,075	10	9	90
0,084	8	4	50
0,090	8	3	38
0,12	6	0	0

Tabelle 15.

Percain (0,3 %ig) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,036	10	10	100
0,045	20	8	40
0,054	10	0	0

Tabelle 15a.

Percain (0,3 %ig + Adrenalin) mg/g	Zahl der Tiere	Überlebende Tiere	
		Anzahl	%
0,036	6	6	0
0,045	22	8	37
0,054	12	3	25
0,060	10	0	0

doppelt. Etwas weniger stark ist die Giftigkeitszunahme bei Tropacocain, Larocain* und Stovain.

Eine deutliche Verminderung der Giftigkeit durch Adrenalin ließ sich nur beim Pantocain feststellen. Die letale Dosis wird hier durch den Adrenalinzusatz bei subcutaner Injektion verdoppelt. Fußgänger und

* Fromherz [Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 368 (1930)] fand am Gefäßpräparat vom Frosch, daß Larocain deutlich schwächer antagonistisch gegen Adrenalin wirkt als Novocain.

Schaumann[26] fanden allerdings bei Kaninchen eine noch stärkere Entgiftung, es dürfte dies jedoch z. T. daran liegen, daß die von diesen Autoren als letal angesehene Pantocaindosis (20 mg/kg) etwas zu niedrig ist. Bei eigenen orientierenden Versuchen wurden noch 30 mg/kg (0,5%ige Lösung) auch ohne Adrenalinzusatz gelegentlich überlebt.

Eine Entgiftung des Percains durch Adrenalin konnte entgegen den Angaben von Møller[27] nur in ganz geringem Grade festgestellt werden.

Eine Erklärung für die erhobenen Befunde wird dadurch erschwert, daß über die Gefäßwirksamkeit der verschiedenen Lokalanaesthetica allein und in Kombination mit Suprarenin recht widerspruchsvolle Befunde vorliegen. Im allgemeinen wird aber, wie oben bereits erwähnt, von den neueren Untersuchern angenommen, daß Cocain die Suprareninwirkung auf die Gefäße verstärkt oder doch unbeeinflußt läßt, während die anderen Lokalanaesthetica in dieser Beziehung mehr oder weniger stark antagonistisch gegen das Suprarenin wirken.

Die erhebliche Giftigkeitssteigerung, die die bisher daraufhin untersuchten Lokalanaesthetica durch den Zusatz von Adrenalin an und für sich erfahren (vgl. die Befunde mit intravenöser Injektion von Taubmann und Jung[6], Eichholtz und Hoppe[7], Keil und Rühling[8]) läßt sich jedenfalls bei subcutaner Injektion nur bei Cocain und Percain durch die lokale Gefäßwirkung der Gemische vermeiden, bei den anderen Mitteln ist die bei intravenöser Injektion gefundene erhöhte Giftigkeit infolge ihres Antagonismus gegen die periphere Gefäßwirkung des Adrenalins auch bei subcutaner Injektion mehr oder weniger stark erhalten.

Schwierig ist nur die Erklärung des Befundes beim Pantocain. Nach den Befunden von Klenke[29] ist es denkbar, daß Pantocain die Adrenalinwirkung auf die Gefäße ebenfalls verstärkt oder doch weniger stark hemmt als die anderen Lokalanaesthetica (vgl. auch Schaumann[15]). Aber selbst wenn Pantocain sich in dieser Beziehung ähnlich wie Cocain verhalten sollte, muß man darüber hinaus annehmen, daß Adrenalin bei diesem Derivat der p-Aminobenzoesäure keine oder doch nur eine verhältnismäßig geringe Verstärkung der atemlähmenden Wirkung verursacht. Eine Entscheidung hierüber können nur ausgedehnte Tierversuche mit intravenöser Injektion von Pantocain-Adrenalingemischen bringen (vergl. die Befunde von Eichholtz und Hoppe[7]).

Die von Braun und anderen Autoren beobachtete Verstärkung der lokalbetäubenden Wirkung der verschiedenen Lokalanaesthetica durch den Adrenalinzusatz dürfte nach dem oben Gesagten nur zu einem Teil auf eine Verlangsamung der Resorption dieser Mittel zurückzuführen sein (vgl. auch Trendelenburg[30]). Man wird daher zur Erklärung dieses Phänomens außerdem an eine mittelbare oder unmittelbare Einwirkung

---

[29] Klenke, J.: Dissertation Marburg 1931. — [30] Trendelenburg, P.: Handb. exper. Pharm. **2**, II, 1179 (1924).

des Suprarenins auf die sensiblen Nervenendigungen denken müssen (vgl. hierüber Rentz[19] und Read und Lin[31]). Die Möglichkeit, daß darüber hinaus chemische Umsetzungen zwischen Anaestheticum und Suprarenin in manchen Fällen zu einer Änderung der Wirkungsintensität führen könnten, scheint nach den Beobachtungen von Langecker[25] ebenfalls gegeben.

Zusammenfassung.

Versuche an Mäusen ergaben, daß Novocain und Novocain-Adrenalingemische durch kleine Gaben von Cardiazol, Coramin, Lobelin und Coffein etwas entgiftet werden.

Vorbehandlung mit kleinen Kampferdosen erhöhte ebenfalls die Zahl der die sonst tödlich wirkende Novocaindosis überlebenden Tiere. Hierbei fiel eine deutliche Abschwächung der Novocainkrämpfe auf.

Spasmolytica (Papaverin, Octin) und Hypnotica (Paraldehyd, Chloralhydrat, Trional, Luminal) wirkten in kleinen Dosen krampflindernd, vermochten jedoch den Tod der mit Novocain vergifteten Tiere nicht zu verhindern.

Kombination der Ersatzmittel des Cocains mit Adrenalin führt auch bei subcutaner Injektion zu einer z. T. sehr erheblichen Giftigkeitszunahme. Ausnahmen bilden Percain, das wie Cocain durch den Adrenalinzusatz bei subcutaner Injektion vielleicht eine geringe Abschwächung der Giftigkeit erfährt, und Pantocain, bei dem Adrenalin zu einer Verdoppelung der letalen Dosis führt.

Die Befunde werden diskutiert.

---

[31] Read, B., u. Ch. Lin: Chin. J. physiol. **1**, 23—31 (1927).

Aus dem Pharmakologischen Institut der ungar. königl. „Tisza István"-Universität in Debrecen. (Direktor: Dr. A. v. Jeney, o. ö. Univ.-Professor.)

Neue Beiträge zur Kenntnis des Antiheparin-Fåktors der Leber.

Über die Rolle der Redox-Systeme in der Blutgerinnung.

Von

A. v. Jeney, T. Vályi-Nagy und **J. Magyari.**

(Eingegangen am 23. August 1940.)

In einer früheren Arbeit (14) berichteten wir über die Beobachtung, daß aus Schweineleber durch Verseifung und Ätherextraktion ein Auszug gewonnen werden kann, der infolge seines Gehalts an einem näher unbekannten Bestandteil die Gerinnung des Heparinplasmas insbesondere in der Anwesenheit von lebenden Zellsuspensionen, vor allem aus Milz, Lymphdrüsen, Herzmuskel, merkbar beschleunigt.

Dieser Leberbestandteil kann weder nach Einverleibung in den Kreislauf von lebenden Tieren eine intravaskuläre Gerinnung hervorrufen, noch die Gerinnung des Oxalatplasmas, selbst in der Anwesenheit von Zellsuspensionen. Seine Wirkung auf das rekalzifizierte Oxalatplasma ist, im Vergleich zu den aus Hirn oder Lungen hergestellten Thrombokinasezubereitungen, lediglich eine milde Thrombokinasewirkung. Der im Auszug befindliche Faktor dürfte keine Thrombokinase sein, da der Leberauszug weder Proteine noch ein Phospholipoid (Cephalin) enthält. Der Stoff bringt die Fibrinogenlösung nur in der Anwesenheit einer ausreichenden Menge von Calciumionen und frischem Kaninchenserum (Prothrombin) zur Gerinnung. Das aus dem Plasma mit dem Aluminiumhydroxydbrei entfernte Prothrombin kann durch den Leberauszug nicht ersetzt werden. Die Antiheparinwirkung kommt in der Anwesenheit von Lungenthrombokinase vollständiger zur Geltung als ohne diesen Faktor. In der angeführten Arbeit wurde darauf hingewiesen, daß der von uns beobachteten Wirkung weder ein K-vitaminartiger Stoff zugrunde liegen dürfte, obwohl ein solcher Stoff gleichfalls aus Schweineleber hergestellt wurde (Dam, Schønheyder), noch der sterinartige von Lichtmann und Chambers (20) aus Leber hergestellte Faktor. Schließlich wurde in jener Arbeit die vielseitige Rolle der Leber im Gerinnungsprozeß (Fibrinogen, Prothrombin, Heparin) erörtert.

In der vorliegenden Untersuchungsserie trachteten wir das Wesen der von uns beobachteten Erscheinung weiter aufzuklären.

Methodik.

Wir arbeiteten mit derselben Methodik wie in unseren früheren Versuchen. Die Gerinnungsversuche wurden nach A. Fischer (9) durchgeführt, im allgemeinen mit 0,4—0,5 ccm Gesamtflüssigkeitsmenge. In den Versuchen wurde Kaninchenblut angewandt. Das aus der Carotis entnommene Blut wurde in eisgekühlten, paraffinierten, Heparinpulver enthaltenden Zentrifugenröhrchen aufgefangen. Auf 10 ccm Blut kamen 2 mg Heparin (0,02 %). Das Thrombokinasepräparat wurde aus Kaninchenlungen hergestellt. Die Lungen der ausgebluteten Tiere wurden von dem Blute und den Gefäßen womöglich gereinigt und mit Wasser abgewaschen, in einer Porzellanreibschale mit Meersand zum Brei verarbeitet und aus dem Brei mit einer 0,85 %igen Kochsalzlösung ein Auszug hergestellt (aus 30 g Organ 100 ccm Auszug). Die aktuelle Reaktion der beim Ausziehen verwendeten Kochsalzlösung wurde mittels eines Phosphatpuffers durch Versetzung von 94 ccm Kochsalzlösung mit 6 ccm Puffer auf p_H 7,3 eingestellt. Der Auszug wurde 15 Minuten bei 60° C gehalten, um die zurückgebliebenen Spuren von Thrombin und Prothrombin zu inaktivieren. Nun haben wir die Gewebssuspension mild zentrifugiert und die obere opaleszierende Flüssigkeit als Thrombokinasepräparat angewandt. Das Präparat wurde im „Frigo"-Apparat ständig bei niedriger Temperatur gehalten und vor Gebrauch mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1,5 : 10 ccm verdünnt.

Versuche.

Zunächst wurde die Wirkung von Kaliumcyanid untersucht, damit der Einfluß der Beseitigung der Gewebsatmung auf die Gerinnung beobachtet werden kann (Tabelle 1). In der Versuchsreihe Nr. 1 wurde ein Teil

Tabelle 1. Die Wirkung von KCN.

Nr. der Röhre:		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ... ccm		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase aus Lunge ..... „		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m/500 KCN ..... „		—	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Leberextrakt (0,5 %) „		—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1
0,85 % NaCl ..... „		0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—
Gerinnungszeit in Sek.	I. Versuchsreihe	270	255	240	270	180	165	165	180	330	330	330	345	330	390	420
	II. Versuchsreihe	270	285	270	285	195	195	195	165	345	360	345	365	345	315	345
	III.* Versuchsreihe	270	225	285	270	180	195	240	225	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
		266″				190″ (−76″)				340″ (+74″)			358″ (+92″)			

* Mit 0,1 % KCN angestellt.

der Röhrchen mit je 0,1 ccm m/500 KCN-Lösung versetzt. Diese Kaliumcyanidmenge erhöhte die durchschnittliche Gerinnungszeit des Heparinplasmas von 266 Sek. auf 340 Sek., mithin erfolgte eine Verlängerung der

Gerinnungszeit um 74 Sek. Die Gerinnungszeit verlangsamte sich auch in den Fällen, wo den Röhrchen außer dem m/500 KCN auch ein Leberextrakt hinzugefügt wurde. In diesem Fall betrug die durchschnittliche Gerinnungszeit 358 Sek., was einer Verlängerung von 92 Sek. entspricht. Durch die Anwendung einer 0,1%igen an Stelle der m/500 Lösung wurde die Gerinnungshemmung vollständig gemacht (III. Versuchsreihe). Die vollständige Hemmung erfolgte trotz der Hinzufügung der bisherigen Dosis (0,1 ccm der 0,5%igen wässerigen Lösung) des Leberauszuges. Durch Hinzugabe derselben Leberextraktmenge allein ließ sich die Gerinnungszeit des Heparinplasmas in einem Teil der Röhrchen von der durchschnittlichen Gerinnungszeit von 266 Sek. auf 190 Sek., also rund um 76 Sek., herabsetzen.

Kaliumcyanid übt also einen hemmenden Einfluß auf die Gerinnung des Heparinplasmas aus, es beseitigt überdies die Wirkung des im Leberextrakt befindlichen Antiheparinfaktors. Auf Grund dieser Beobachtung erscheint unsere Annahme berechtigt, daß es sich hier um den Einfluß eines biologischen Redoxsystems auf irgendeine enzymatische Tätigkeit handeln dürfte.

Aus diesem Grunde wurde an dem aus einem anderen Kaninchen stammenden Plasma die Wirkung der Ascorbinsäure in und ohne Anwesenheit des Leberextraktes untersucht (Tabelle 2).

Tabelle 2. Die Wirkung von Ascorbinsäure.

Nr. der Röhre:		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ..... ccm		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase aus Lunge „		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m/200 Ascorbinsäure .... „		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Leberextrakt (0,5%) .... „		—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	—
0,85% NaCl ..... „		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Gerinnungszeit in Sek.	I. Versuchsreihe	135	120	150	135	120	60	60	60	60	45	75	90	75	75	75
	II. Versuchsreihe	135	120	135	165	120	45	45	60	60	60	60	75	75	75	75
		133″					55″ (– 78″)					75″ (– 58″)				

Die Ascorbinsäureverdünnung wurde unter Anwendung einer Phosphatpufferlösung (p_H 7,0) hergestellt. Durch Hinzufügung von je 0,1 ccm m/200 Ascorbinsäurelösung ließ sich die durchschnittliche Gerinnungszeit des Heparinplasma von 133 Sek. auf 75 Sek. herabsetzen, mithin um 58 Sek. verkürzen. Die gerinnungsfördernde Wirkung des Leberextraktes war aber in dieser Serie noch energischer, da in den Kontrollversuchen eine durchschnittliche Gerinnungszeit von 55 Sek., also eine Verkürzung von 78 Sek., beobachtet wurde.

Wurden Leberextrakt und Ascorbinsäure zusammen verwendet, so verkürzte sich die Gerinnungszeit des Heparinplasmas erheblicher als in den Röhrchen, denen nur Ascorbinsäure hinzugegeben wurde.

Die Wirkung von Glutathion und Cystein. Die Gerinnungszeit des aus dem nächsten Versuchstier hergestellten Heparinplasmas wurde

durch je 0,1 ccm einer 0,01 %igen Glutathionlösung von 132 Sek. auf 94 Sek. herabgesetzt, also durchschnittlich um 38 Sek. abgekürzt. Nach Zugabe von 0,1 ccm einer m/200 Cysteinlösung war die Gerinnungszeit 58 Sek., die Beschleunigung 74 Sek. (Tabelle 3).

Tabelle 3. Die Wirkung von Glutathion und Cystein.

Nr. der Röhre:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ..... ccm	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase aus Lunge ..... „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m/200 Glutathion..... „	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	—
m/200 Cystein ..... „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
0,85 % NaCl ..... „	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Gerinnungszeit in Sek. I. Versuchsreihe	120	120	135	135	120	105	105	105	105	90	60	60	60	60	60
Gerinnungszeit in Sek. II. Versuchsreihe	135	150	150	135	120	105	90	75	90	105	75	60	45	45	60
			132″				94″ (– 38″)					58″ (– 74″)			

Nach obigen Ergebnissen erschien die eingehende Untersuchung der Wirksamkeit des Redoxsystems Cystein $\rightleftarrows$ Cystin zweckmäßig. In dieser Richtung wurden insgesamt 9 Serienuntersuchungen mit den aus drei verschiedenen Kaninchen hergestellten Heparinplasmazubereitungen durchgeführt. Nach den eindeutigen Ergebnissen bleibt die Gerinnungszeit des Heparinplasmas von Cystin beinahe vollkommen unbeeinflußt, während sie von Cystein in jedem Falle erheblich verkürzt wird. Die Verlangsamung betrug 66 Sek. in der ersten, 94 Sek. in der zweiten und 41 Sek. in der dritten Versuchsreihe (Tabelle 4).

Tabelle 4. Die Wirkung von Cystein und Cystin.

Nr. der Röhre:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ... ccm	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase aus Lunge ..... „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m/200 Cystein ..... „	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		—	—	—	
m/200 Cystin ..... „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
0,85 % NaCl ..... „	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Gerinnungszeit in Sek. I. Versuchsreihe	150	135	120	120	150	90	75	75	90	90	150	150	105	150	150
Gerinnungszeit in Sek. II. „	165	135	150	225	120	75	90	105	90	90	150	120	135	165	150
			141″				75″ (– 66″)					142″			
Gerinnungszeit in Sek. III. Versuchsreihe	285	240	270	240	240	165	150	165	165	135	225	210	240	240	225
Gerinnungszeit in Sek. IV. „	240	300	240	225	240	150	135	165	165	135	255	210	210	255	240
Gerinnungszeit in Sek. V. „	255	225	225	240	255	180	165	150	165	120	225	195	210	180	285
			248″				154″ (– 94″)					227″			
Gerinnungszeit in Sek. VI. Versuchsreihe	120	120	120	135	135	90	90	105	75	75	135	135	150	130	135
Gerinnungszeit in Sek. VII. „	120	135	135	105	120	75	75	105	90	60	120	135	150	165	120
Gerinnungszeit in Sek. VIII. „	150	135	120	120	120	60	75	105	90	75	135	150	165	120	120
Gerinnungszeit in Sek. IX. „	135	120	120	135	120	90	75	105	60	75	105	120	135	150	150
			126″				85″ (– 41″)					134″			

Die Wirkung von Redox-Farbstoffen auf die Gerinnung des Heparinplasmas. In der ersten Serie wurden 1 : 1000-Verdünnungen von Safranin, Neutralrot und Methylenblau unter Anwendung eines Phosphatpuffers (p_H 7,3) hergestellt. Ohne Hinzufügung des Leberextraktes verursachten diese Farbstoffe nur wenig Änderung in der Gerinnungszeit des Heparinplasmas. Nur die Methylenblaulösung übte auch allein eine gewisse beschleunigende Wirkung aus. Wurden aber die Lösungen außer den Farbstoffen auch mit Leberextrakt versetzt, so ließ sich schon in der Farbstoffwirkung ein erheblicher Unterschied feststellen (Tabelle 5). Während die Verlangsamung nach Leberextrakt allein nur 56 Sek. betrug, wurde nach der Einwirkung von Safranin und Leberextrakt eine 93 Sek., nach Neutralrot und Leber eine 93 Sek., und nach Methylenblau und Leber eine 181 Sek. betragende Verlangsamung beobachtet.

Tabelle 5. Die Wirkung von Safranin, Neutralrot und Methylenblau in Anwesenheit von Leberextrakt.

Nr. der Röhre:		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ..... ccm		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase aus Lunge ..... „		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
0,5 % Leberextrakt .. „		—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
$^1/_{1000}$ Safranin ..... „		—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	—	—	—
$^1/_{1000}$ Neutralrot ..... „		—	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—
$^1/_{1000}$ Methylenblau .. „		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1
0,85 % NaCl ..... „		0,2	0,2	0,1	0,1			—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gerinnungszeit in Sek.	I. Versuchsreihe	270	235	210	210	165	165	165	165	165	165	165	165	75	75	75
	II. Versuchsreihe	235	235	195	195	165	165	165	165	165	165	165	165	90	75	75
		258″		202″ (– 56″)		165″ (– 93″)				165″ (– 93″)				77″ (– 181″)		

Nachher wurde die Wirkung von o-Chlorophenol-indophenol und Phenol-m-sulfonat-indo-2 : 6-dibromphenol untersucht. Auch diese Stoffe wurden mit dem Phosphatpuffer im Verhältnis 1 : 1000 (p_H 7,3) verdünnt. Beide Farbstoffe allein hinderten die Gerinnung des Heparinplasmas.

Nach der gleichzeitigen Anwendung von Leberextrakt und o-Chlorophenol-indophenol fand im Heparinplasma zwar eine Gerinnung statt, doch 111 Sek. später als in den Kontrollversuchen und 202 Sek. später als nach der alleinigen Anwendung des Leberextraktes (Tabelle 6). Die gleichzeitige Anwendung von Leberextrakt und Phenol-m-sulfonat-indo-2 : 6-dibromphenol verlangsamte die Gerinnung um 152 Sek., im Vergleich mit den Kontrollröhrchen und um 205 Sek. im Vergleich mit dem nur mit Leberextrakt behandelten Heparinplasma (Tabelle 7).

Tabelle 6. Die Wirkung von o-Chlorophenol-indophenol und Leberextrakt.

Nr. der Röhre:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ..... ccm	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase aus Lunge ..... „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
0,5 % Leberextrakt .. „	—	—	—	0,1	0,1	0,1	—	—	—	0,1	0,1	0,1	—	—	—
o-Chlorophenol-indophenol 1 : 1000 .... „	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—
0,85 % NaCl ..... „	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	0,2	0,2	0,2
Gerinnungszeit in Sek. I. Versuchsreihe	225	225	180	135	135	150	∞	∞	∞	345	345	∞	240	195	210
Gerinnungszeit in Sek. II. Versuchsreihe	240	240	225	120	120	150	∞	∞	∞	315	360	330	225	240	225
	222″			131″ (− 91″)			∞			333″ (+ 111″)			222″		

Tabelle 7. Die Wirkung von Phenol-m-sulfonat-indo-2 : 6-dibromphenol und Leberextrakt.

Nr. der Röhre:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Heparinplasma ..... ccm	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase aus Lunge .... „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
0,5 % Leberextrakt ..... „	—	—	—	0,1	0,1	0,1	—	—	—	0,1	0,1	0,1
Phenol-m-sulfonat-indo-2 : 6-dibromphenol 1 : 1000 ..... „	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
0,85 % NaCl ..... „	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—
Gerinnungszeit in Sek. I. Versuchsreihe	240	225	225	135	225	165	∞	∞	∞	375	390	∞
Gerinnungszeit in Sek. II. „	225	240	225	135	165	225	∞	∞	∞	375	390	390
	230″			177″ (− 55″)			∞			382″ (+ 152″)		

Auf Grund dieser Beobachtungen suchten wir Literaturangaben über den Zusammenhang zwischen der Wirkung der Redox-Indikator-Farbstoffe und der Blutgerinnung.

Nur eine einzige diesbezügliche Angabe wurde gefunden [Hermann (13)]; bedauerlicherweise waren wir nicht in der Lage, diese Arbeit im Original zu lesen; wir haben den Inhalt der Arbeit aus einem zusammenfassenden Referat [Haurowitz (12)] kennengelernt.

Nach Hermann wird die Gerinnung des frischen „Vollblutes" durch Janusgrün vollständig aufgehoben. Wir können seine Ergebnisse bestätigen, da die Gerinnung tatsächlich ausblieb, wenn Janusgrün zum frischen „Vollblut" oder aber zum Heparinplasma gegeben wurde.

Nun erfolgte aber, zu unserer größten Überraschung, in der Anwesenheit des Leberextraktes keine Gerinnungshemmung des Heparinplasmas; im Gegenteil, die Gerinnung erfuhr bei der gleichzeitigen Anwendung von Janusgrün und Leberextrakt eine solche Beschleunigung, die mit keinem anderen in den bisherigen Versuchen angewandten Stoff hervorgerufen werden konnte. Neben der schnellen Gerinnung des Heparinplasmas war die Ausscheidung des Farbstoffs in

groben Flocken eine andere auffallende Erscheinung (Tabelle 8). Die Beschleunigung war nach Leberextrakt allein, Cystein oder Neutralrot geringer; Phenol-m-sulfonat-indo-2 : 6-dibromphenol und o-Chlorophenol-indophenol verursachten dagegen eine Verlangsamung der Gerinnung.

Tabelle 8. Die Wirkung von Janusgrün.

Nr. der Röhre:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ... ccm	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase aus Lunge ..... „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m/200 Cystein ..... „	—	—	0,1	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
m/200 Cystin ..... „	—	—	—	—	0,1	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$^1/_{1000}$ Janusgrün ... „	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	—	—	—	—	—	—	—
$^1/_{1000}$ Safranin ..... „	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	—	—	—	—	—
$^1/_{1000}$ Neutralrot ... „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	—	—	—
Phenol-m-sulfonat-indo-2 : 6-dibrom-phenol 1 : 1000 .. „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	—
o-Chlorophenol-indo-phenol 1 : 1000.. „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1
0,5 % Leberextrakt „	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
0,85 % NaCl ..... „	0,2	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gerinnungszeit in Sek.	150	120	120	120	150	150	60	60	165	165	135	135	210	180	195

Die den Literaturangaben widersprechende Wirkung des Janusgrüns in unseren Versuchen dürfte einerseits dem angewandten Leberextrakt, andererseits dem Heparingehalt des Plasmas zugeschrieben werden.

Die Antwort auf diese Frage wurde in einer folgenden Versuchsserie gesucht (Tabelle 9). Die Gerinnung des Heparinplasmas blieb in der Anwesenheit von Janusgrün und Thrombokinase aus und trat erst nach der

Tabelle 9. Die Wirkung von Janusgrün mit und ohne Leberextrakt.

Nr. der Röhre:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ..... ccm	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase (Lunge) „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m/200 Cystein ..... „	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—
m/200 Cystin ..... „	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—
$^1/_{1000}$ Janusgrün..... „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1
0,5 % Leberextrakt .... „	—	0,1	0,1	.	.	0,1	0,1	.	.	0,1	0,1	.	.	0,1	0,1
0,85 % NaCl ..... „	0,2	—	—	0,1	0,1	—	—	0,1	0,1	—	—	0,1	0,1	—	—
Gerinnungszeit in Sek.....	375	180	180	60	60	90	90	105	∞	360	390	∞	∞	75	75

Zugabe von Leberextrakt ein. In derselben Serie verursachte Cystein allein eine etwas raschere Gerinnung des Heparinplasmas als in der Anwesenheit des Leberextraktes. Dagegen wurde die gerinnungsfördernde Wirkung des Leberextraktes durch Cystin gehemmt. Die Beschleunigung der Gerinnung betrug auf die alleinige Einwirkung des Leberextraktes

195 Sek. Janusgrün wies in einer weiteren Versuchsserie dieselbe Wirkung auf.

Laut Obigem ist zur Behebung der gerinnungshemmenden Janusgrünwirkung die Anwesenheit des Leberextraktes, nicht aber die des Heparins notwendig.

Wir suchten nun im Hinblick auf den Unterschied in der Wirkung von Janusgrün, Cystein und Glutathion auf das heparinhaltige bzw. heparinfreie Plasma eine Klärung zu schaffen.

In einer diesbezüglichen Versuchsreihe wurde die Gerinnung des Heparinplasmas durch Janusgrün ebenfalls nur in der Anwesenheit des Leberextraktes beschleunigt (um 30 Sek. im Vergleich zur Kontrolle). Ohne Leberextrakt fand eine ausgesprochene Hemmung statt (Tabelle 10).

Tabelle 10. Die Wirkung von Janusgrün auf Plasma mit und ohne Heparin.

Nr. der Röhre:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ..... ccm	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase (Lunge) „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	0,1	0,1	—
$^1/_{1000}$ Janusgrün ..... „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—
0,5 % Leberextrakt .... „	0,1	0,1	—	—	0,1	0,1	—	—	—	—	0,1	0,1	—	—	—
Frisches Plasma ohne Heparin ..... „	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	—	—	—
0,85 % NaCl ..... „	—	—	0,1	0,1	—	—	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3
Gerinnungszeit in Sek.	60	60	∞	∞	45	45	∞	∞	∞	∞	180	195	90	90	∞

Der Unterschied in der Janusgrünwirkung, abhängig davon, ob der Leberextrakt zugegeben wurde oder nicht, konnte auch in den Versuchen mit heparinfreiem Plasma beobachtet werden. In derselben Versuchsreihe wies unser Leberextrakt in der Anwesenheit von Janusgrün eine schwache Thrombokinasewirkung auf, denn das Heparinplasma gerann, obwohl (um 90—105 Sek.) später als die Kontrolle, auch ohne den Zusatz eines Thrombokinasepräparates.

In einer weiteren Versuchsreihe wirkte Cystein in ähnlichem Sinne auf die Gerinnung des heparinhaltigen und auch des heparinfreien Plasmas. In beiden Fällen erfolgte die Gerinnung etwas (um 30 bzw. 75 Sek.) rascher, wenn außer Cystein auch Leberextrakt anwesend war (Tabelle 11). Im

Tabelle 11. Die Wirkung von Cystein auf Plasma mit und ohne Heparin.

Nr. der Röhre:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ..... ccm	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thrombokinase (Lunge) „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	0,1	0,1	—
m/200 Cystein ..... „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—
0,5 % Leberextrakt .... „	0,1	0,1	—	—	0,1	0,1	—	—	—	—	0,1	0,1	—	—	—
Frisches Plasma ohne Heparin ..... „	—	—	—	—	0,1	0,1	0,1	0,1	—	—	—	—	—	—	—
0,85 % NaCl ..... „	—	—	0,1	0,1	—	—	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3
Gerinnungszeit in Sek.	75	75	105	105	45	45	120	120	∞	∞	∞	∞	90	90	∞

Gegensatz aber zur vorherigen Versuchsreihe vermochte der Leberextrakt in der Anwesenheit von Cystein keine thrombokinaseartige Wirkung auszuüben.

In einer neueren Versuchsreihe wirkte der Leberextrakt zusammen mit Glutathion auf das Heparinplasma etwas stärker gerinnungsfördernd als der Leberextrakt allein. Dagegen wurde die Gerinnung des frischen heparinfreien Plasmas von Glutathion allein etwas stärker beschleunigt als durch die Zusammenwirkung von Glutathion und Leberextrakt. Die Wirkung des fehlenden Thrombokinasepräparates konnte auch durch die Kombination von Glutathion und Leberextrakt nicht ersetzt werden.

Da nun in der Anwesenheit des Leberextraktes die Wirkung des Janusgrüns sowohl auf die Gerinnung des heparinhaltigen als auch auf die des heparinfreien Plasmas umgekehrt wurde, tauchte das Problem auf, ob die Wirkung des Janusgrüns sich von Glutathion und Cystein in demselben Sinne beeinflussen läßt wie vom Leberextrakt. Die Gerinnung des Heparinplasmas fand unter der Wirkung von Glutathion bzw. Cystein in derselben Zeit statt. Die gerinnungshemmende Wirkung des Janusgrüns verlief in der Anwesenheit dieser Stoffe ganz so, als ob sie dem Heparinplasma überhaupt nicht hinzugefügt worden wären (Tabelle 12). So zeigten

Tabelle 12. Der Einfluß von Glutathion und Cystein auf die Janusgrün-Wirkung.

Nr. der Röhre:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Heparinplasma ..... ccm	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		–	
Thrombokinase (Lunge) „	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m/200 Glutathion ..... „	0,1	0,1	0,1	0,1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
m/200 Cystein ..... „	–	–	–	–	0,1	0,1	0,1	0,1	–	–	–	–	–	–	–
$^1/_{1000}$ Janusgrün ..... „	–		0,1	0,1			0,1	0,1			0,1	0,1		0,1	0,1
0,5 % Leberextrakt .... „	–	–	–	–	–	–	–	–	0,1	0,1	0,1	0,1	–	–	0,1
Frisches Plasma ohne Heparin ..... „	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,1	0,1	0,1
0,85 % NaCl ..... „	0,1	0,1	–	–	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	–	–	0,2	0,1	–
Gerinnungszeit in Sek.	60	60		–	60	60			105	165	120	120	45	∞	105

Glutathion und Cystein gegenüber Janusgrün ein von dem des Leberextraktes abweichendes Verhalten. Übrigens wirkte Janusgrün auf die Gerinnung des Heparinplasmas in der Anwesenheit des Leberextraktes auch in dieser Versuchsreihe nicht hemmend, sondern im Gegenteil beschleunigend.

Die Gerinnung des heparinfreien Plasmas wurde vom Janusgrün auch in dieser Serie gehemmt. Auch diese Hemmung konnte durch Leberextrakt behoben werden: die Gerinnung ging vonstatten, wohl etwas (um 60 Sek.) später.

Besprechung der Ergebnisse.

Folgende Stoffe fördern die Gerinnung des heparinfreien Plasmas: der von uns hergestellte Leberauszug und, in seiner Anwesenheit, das elektronegative Glutathion, Cystein, Neutralrot, Safranin, Janusgrün, ferner die nur eine schwache Elektropositivität aufweisenden Stoffe Methylenblau und Ascorbinsäure. Die ausgesprochen elektropositiven Redoxfarbstoffe o-Chlorophenol-indophenol und Phenol-m-sulfonat-indo-2 : 6-dibromphenol wirken auf den Gerinnungsvorgang hemmend ein (siehe Tabelle 13).

Tabelle 13. Das Verhältnis der verwendeten Indikatorfarbstoffe zu einigen biologischen Redoxsystemen(15).

		E^0 in mV beim $p_H = 7{,}0$
	H_2-Elektrode	− 0,421
	Glutathion	− 0,400
Die Gerinnung von Heparinplasma in Anwesenheit von Leberextrakt wird beschleunigt durch:	Neutralrot	− 0,325
	Safranin	− 0,340
	Janusgrün	− 0,289
	Leberzellen	− 0,256
	Vitamin-B_2	− 0,230
	Lactoflavin	− 0,213
	Apfelsäure, Fumarsäure	− 0,185
	Methylenblau	− 0,036
	l-Ascorbinsäure (Vitamin-C)	+ 0,011
	Hämoglobin, Methämoglobin	+ 0,066
Die Gerinnung von Heparinplasma in Anwesenheit von Leberextrakt wird verzögert durch:	o-Chlorophenol-indophenol	+ 0,152
	Cytochrom	+ 0,233
	Homogentisinsäure-Benzochinonessigsäure	+ 0,260
	Phenol-m-sulfonat-indo-2 : 6-dibromphenol	+ 0,265
	Pyrocatechin	+ 0,273
	Dioxyphenylalanin	+ 0,360
	Oxyd. Adrenalin	+ 0,360
	Hämocyanin, Methämocyanin	+ 0,390
	O_2-Elektrode	+ 0,540
		+ 0,810

Auf Grund dieser Tatsachen erscheint die Annahme berechtigt, daß in den von uns beschriebenen Vorgängen die Gerinnung im allgemeinen und ganz besonders die des Heparinplasmas entweder von dem in der Leber befindlichen und in den Auszug gelangten biologischen Redoxsystem selbst beeinflußt wird, oder aber der Extrakt Leberbestandteile enthält, welche die Wirksamkeit der in diesen Vorgängen tätigen biologischen Redoxsysteme in irgendeiner Weise fördern, ergänzen bzw. zur Geltung kommen lassen.

In der Literatur hat vor allem Mathews (22) in seinem Werke (1936) die Ansicht geäußert, daß es zwischen den biologischen Redoxsystemen und den Erscheinungen der Blutgerinnung Zusammenhänge gibt. Er nimmt an, daß zur Aktivierung des Prothrombins 1. Calciumionen, 2. freies Cephalin und 3. ein oxydierter Stoff nötig sind, welch letzterwähnter einen

Bestandteil eines Redoxsystems darstellt, eventuell mit dem Cystein oder dem oxydierten Glutathion identisch ist.

Nach seiner Ansicht kann die Blutgerinnung durch folgende Verfahren gehemmt werden: 1. durch Bindung oder Entfernung der Calciumionen (mittels Oxalate, Metaphosphate, Fluoride, Citrate, Sulfate); 2. durch Bindung und Entfernung des freien Cephalins; 3. durch reduzierende Stoffe, welche die oxydierten Disulfide in reduzierte Monosulfide verwandeln.

Hier soll auf den Umstand hingewiesen werden, daß diese Theorie von Mathews sich auf die ohne Heparin verlaufende Blutgerinnung bezieht. Auch die Versuche von Kühnau und Morgenstern (17) wurden mit frischem heparinfreiem Blut ausgeführt (1934). In ihren Versuchen wurde die Gerinnung des frischen menschlichen und des Tierblutes von Glutathion, Cystein, Ergothionein und Thiolhistidin, am stärksten aber von Glutathion gehemmt. Die Wirkung war verschieden, entsprechend der Konzentration und dem p_H. In niedrigeren Konzentrationen des SH-Glutathions (unter $2 \cdot 10^{-2}$ Mol) und bei einem $p_H > 7{,}4$ ging die Gerinnung, im Gegensatz zu den anderen Versuchen, rascher vor sich. Nach diesen Verfassern sei die Gerinnung vom Glutathiongehalt des Blutes in spezifischer Weise gesteuert. Die Steuerung äußert sich in einer intravasalen Hemmung und in einer extravasalen Förderung, nachdem die Reaktion des Blutes infolge Kohlensäureabgabe in der alkalischen Richtung verschoben worden ist. Den Angriffspunkt des Glutathions stellen sie sich am Thrombin vor. Die Wirkung wird aufgehoben, wenn die SH-Gruppe von anderen Stoffen gebunden wird.

Aus der Anzahl der Hydrosulfid- und Disulfidgruppen und ihrem Verhältnis glaubt A. E. Mirsky [1936 (24, 25, 26)] auf die Eiweißdenaturierung folgern zu dürfen, da die Zahl der aktiven SH-Gruppen im Molekül der nicht denaturierten Eiweißstoffe mit steigerndem p_H zunimmt. So hängt z. B. die Zahl der im Globin nachweisbaren SH-Gruppen vom p_H ab. Der Einfluß des p_H ist reversibel. Bei einem p_H-Wert von 6,8 können im Globinmolekül freie SH-Gruppen nicht mehr nachgewiesen werden. Im allgemeinen verschiebt sich das p_H-Gebiet, innerhalb dessen die SH-Gruppen während der Eiweißdenaturierung noch nachgewiesen werden können, nach der sauren Richtung. Auch A. Schöberl und Fr. Krumey (31) betonen (1938) die Bedeutung des p_H aus dem Gesichtspunkte der biologischen Wirkung der Sulfhydril- und Disulfidgruppen. So besitzt das SH-Glutathion gegenüber Phosphorwolframsaure bei p_H 7.3 eine ebenso starke reduzierende Wirkung wie Cystein bei p_H 5,2.

Auch J. H. Sterner und Gr. Medes (34) haben gefunden (1936), daß die Gerinnungszeit des Blutes durch Cystein verlängert wird. Die Verfasser sind der Ansicht, daß diese Erscheinung in keiner Weise mit einem Reduktionsvorgang in Zusammenhang steht.

Wir verwendeten in unseren Versuchen kein frisches Vollblut, sondern Heparinplasma. Glutathion bzw. Cystein wurden in einer Konzentration

von $2 \cdot 10^{-2}$ Mol unter Heranziehung eines auf p_H 7,3 eingestellten Thrombokinasepräparates in vitro angewandt, wodurch unsere Beobachtung, daß Glutathion und Cystein unter diesen Umständen die Gerinnung des Heparinplasmas beschleunigten, Cystin dagegen unwirksam ist, mit den Ergebnissen von Kühnau und Morgenstern (17) in Einklang gebracht werden kann.

Dieser Rolle des reduzierten Glutathions und Cysteins in der Blutgerinnung dürfte eine besondere Bedeutung zukommen, insbesondere, wenn den früheren Ergebnissen die neuen Feststellungen gegenübergestellt werden, nach welchen die SH-Verbindungen eine enzymaktivierende Wirkung besitzen, wie z. B. im Falle des Papains, Kathepsins und der Arginase (Waldschmidt-Leitz, Schäffner (37, 38, 39), Edlbacher (6, 7, 8), Salaskin und Solowjew (29); E. Maschmann und E. Helmert) (21), der Amylase [Pringsheim (28)] und des glykolytischen Ferments (Michaelis und Runnström). Cystein, reduziertes Glutathion, Schwefelwasserstoff und andere SH-haltige Stoffe der Zelle spielen im Zusammenhang mit diesen Enzymen die Rolle des Aktivators. Durch Reduktion verwandeln sie die unwirksame Form dieser Enzyme in eine wirksame. Es wird angenommen, daß die Dithio-Verbindung (RS—SR) zu Thiogruppen reduziert wird (RSH + HSR). Andere wieder glauben, daß die eigentlichen Aktivatoren komplexe Metallhydrosulfidverbindungen sind. Werden die Aktivatoren zu entsprechenden S—S-Verbindungen oxydiert, so werden sie unwirksam. Auf diese Weise verknüpfen sich die Oxydo-Reduktionsvorgänge mit der Enzymhydrolyse.

Wir wissen nun, daß zur Tätigkeit von einer Zellfermentgruppe ein negatives Potential erforderlich ist. Die negative potentielle Lage (die reduzierende Wirkung) der SH-Gruppe kommt im reduzierten Glutathion zur Geltung, als dieses z. B. als Coferment der Glyoxalase wirkt (Giršavičius und Heyfetz). Das Glutathion beeinflußt die Glykolyse, die alkoholische Gärung und auch die Ketonaldehydmutase (Lohmann, Quastel). Cystein fördert die Umwandlung der Brenztraubensäure in Milchsäure (Barrenscheen und Beneschowsky). Tait und King (35) haben nachgewiesen, daß die Dehydration des Cephalins und Lecithins von Glutathion unter anaeroben Verhältnissen bei 38° C wesentlich beschleunigt wird. In dem von uns beobachteten Heparinhemmungsprozeß kann aber eine Veränderung der Cephalinwirkung nicht angenommen werden.

Die Ähnlichkeit zwischen dem Gerinnungsprozeß und der fermentativen Tätigkeit steht nun im Hinblick auf die Wirkung der Redoxsysteme klar vor uns. Diese Ähnlichkeit bringt die ursprünglich von Alexander Schmidt (1905) aufgestellte und später in Vergessenheit geratene Fibrinfermenttheorie in unsere Erinnerung. Anstatt dieser Theorie wurden in Verbindung mit den Erscheinungen der Fibrinogenausscheidung immer mehr kolloidchemische Vorgänge erkannt, obwohl Carl Oppenheimer

und andere vom Thrombin-„Katalysator" sprechen und hierdurch seinen Fermentcharakter betonen. Auch Edgar Wöhlisch (40) gelangt in seiner großen Monographie (1929) zur Folgerung, daß schließlich die Fermenttheorie von Schmidt sich behaupten wird. Das Thrombin wird von Eagle und Harris [1935 (4)] als ein Enzym angesehen, denn es ist hitzeempfindlich und 1 Teil Thrombin kann 200 Teile Fibrinogen zur Gerinnung bringen. Schmitz (30) betrachtet das Thrombin als ein spezialles Ferment (1936), eine „Denaturase". Albert Fischer [1935 (10, 11)] faßt die Blutgerinnung als einen Spezialfall der Denaturierung auf. Nach seiner Ansicht äußert sich die gerinnungshemmende Wirkung des Heparins darin, daß es als eine einbasische Säure gegen die basischen Gruppen der Gewebsextrakte eine Affinität besitzt. Wäre das Heparin nicht vorhanden, so würden diese basischen Gruppen mit den sauren Valenzen der Plasmaproteine reagieren und hierdurch die ersten Keime der Gerinnung bilden. Heparin wirkt also gerinnungshemmend, weil es einen an der Reaktion teilnehmenden Faktor bindet und aus dem Vorgang ausschaltet. Da nach Mirsky und M. L. Anson (1935) im Denaturierungsprozeß den SH-Gruppen eine Bedeutung zukommen dürfte, untersuchte A. Fischer zur Unterstützung seiner vorerwähnten Auffassung den Einfluß des Glutathions und Cysteins auf die Heparinwirkung. In seinen Versuchen (1935) wurde aber von diesen Stoffen auf die Blutgerinnung kein Einfluß ausgeübt, ob sie in oxydierter oder reduzierter Form dem System zugeführt wurden. Unsere obenerwähnten Versuche wurden ohne die vorherige Kenntnis der Untersuchungen von Fischer ausgeführt. Der scharfe Gegensatz zwischen seinen Feststellungen und unseren mehrfach wiederholten Versuchen (s. Tabelle 4) erscheint vorläufig unerklärlich. Nach A. Fischer seien die Eiweißverbindungen der Heparinsalze nur bei einer Reaktion stabil, die entweder dem isoelektrischen Punkt des betreffenden Eiweißes nahe steht oder von diesem Punkt nach der sauren Richtung verschoben ist. Liegt die Reaktion vom isoelektrischen Punkte des Eiweißes in der alkalischen Richtung, so sind nur die Carboxylgruppen des Eiweißmoleküls reaktionsfähig. Da Heparin mit dem Eiweißmolekül nur als mit einer Base in Verbindung treten kann, bleibt es im letzterwähnten Fall neben dem Eiweiß in unverbundenem Zustand. Nach A. Fischer verläuft der reversible Prozeß

$$R<^{COOH}_{NH_2} + HOOC-\text{Heparin} \rightleftarrows R<^{COOH}_{NH_3OOC-\text{Heparin}}$$

im Sinne des oberen Pfeiles, wenn p_H niedriger und im Sinne des unteren, wenn p_H höher liegt als der isoelektrische Punkt des Eiweißes.

Mit dem Zusammenhang zwischen Reaktion und Blutgerinnung bzw. Gerinnungshemmung haben sich zahlreiche Autoren befaßt [Laug (19); Dickinson; Havard, Platt (3); Platt und Dickinson (27); Sendroy, Seelig, van Slyke (32)]. Nach Mirsky wird die Zahl der im Eiweißmolekül befindlichen SH-Gruppen vom Blut-p_H in reversibler Weise beeinflußt.

So wird auch die Tatsache verständlich, daß mittels Stoffe, die eine SH-Gruppe enthalten, die Blutgerinnung beeinflußt werden kann, wie es aus unseren oben besprochenen Versuchen und auch aus den Beobachtungen anderer Verfasser erhellt.

A. Fischer stellt sich den zweiten Abschnitt der Blutgerinnung in der Weise vor, daß zwischen den positiven und negativen Gruppen vieler Fibrinogenmoleküle Ionverbindungen, zwischen den Hauptvalenzen sog. Brücken entstehen. Für diese Auslegung spricht auch die Tatsache, daß die Blutgerinnung ausbleibt, wenn die positiven oder negativen Gruppen der Fibrinogenmoleküle durch andere Verbindungen inaktiviert werden. Solche Vorgänge werden einerseits durch Heparin und andere Sulfonsäuren, andererseits durch basische Farbstoffe, wie z. B. Janusgrün (Hermann, 1937) hervorgerufen. Die vollständige vom Janusgrün auf das heparinfreie und heparinhaltige Plasma ausgeübte Hemmung konnte auch in unseren Versuchen nachgewiesen werden. Wenn aber außer dem Janusgrün dem System auch Leberextrakt hinzugefügt wurde, verschwand die hemmende Wirkung und die Gerinnung kam sogar viel rascher zustande. In diesen Fällen wurde gleichzeitig auch die grobe Ausflockung des Farbstoffs beobachtet. Demnach wurde die Umkehrung der Janusgrünwirkung nicht vom Heparin, sondern vom Leberextrakt hervorgerufen. Hieraus folgt, daß die Bestandteile des verwendeten Leberextraktes in unseren Versuchen sowohl die Heparinwirkung als auch die Wirkung des Janusgrüns umgekehrt hatten. Um welche Bestandteile kann es sich handeln? Von den bei unseren Gerinnungsversuchen verwendeten Stoffen kommen in der Leber das Glutathion (Cystein) und die Ascorbinsäure vor. Nach L. Binet, G. Weller und H. Goudard (2) enthält die frische Leber 171 mg% reduziertes bzw. 186 mg% Gesamtglutathion. Die Anwesenheit des Glutathions wurde auch in den Leberpräparaten „Campolon" und „Hepactron" nachgewiesen [Koser (16)]. Die Beschleunigung der Blutgerinnung durch Ascorbinsäure wurde nicht nur in unseren, sondern auch in den in vitro Versuchen von W. Völkel [1938 (36)] und T. Aoyama [1939 (1)] beobachtet. In unserem Extrakt aber konnte die alkalilabile Ascorbinsäure wegen der Behandlung mit Alkali bei höherer Temperatur in wirksamer Form nicht erhalten werden.

Zwischen der Reaktionsfähigkeit des Leberextraktes und seinem Gehalt an Glutathion bzw. Cystein dürfte hinsichtlich der Wirkung des Extraktes auf das Heparinplasma ein Zusammenhang bestehen. Der Antagonismus zwischen Janusgrün und Leberextrakt kann aber weder auf das Glutathion noch auf das Cystein des Extraktes zurückgeführt werden, da diese Stoffe in Verbindung mit dem Janusgrün unverändert gerinnungshemmend wirken, im Gegensatz zum Leberextrakt, der in der Gesellschaft des Janusgrüns die Gerinnung fördert.

Von den Leberbestandteilen dürfte vielleicht den Schwermetallen eine Rolle zukommen. Nach Kühnau und Morgenstern (18) sei die Wir-

kung des Glutathions auf das Thrombin keine direkte, sie komme eher durch die fördernde Vermittlung von Schwermetallen (Cu, Fe) zustande. Nach E. Maschmann und E. Helmert [1935 (21)] könne das Cystein oder das SH-Glutathion durch das zweiwertige Eisen bis zu einem gewissen Grade nur in dem Falle ersetzt werden, wenn letzteres sich in einer komplexen Bindung befindet.

Die Feststellung, daß die Gerinnung und die Wirkung des in Leberextrakt befindlichen Antiheparinfaktors von Kaliumcyanid gehemmt wird, bildet einen weiteren Beitrag zur Annahme, daß im Laufe der Blutgerinnung Fermenttätigkeit bzw. Oxydo-Reduktionsvorgänge vonstatten gehen. Als fermentative Tätigkeit dürfte zunächst die Verwandlung des Prothrombins in Thrombin angesehen werden. Nach einer früheren Theorie wird die Gerinnung durch Heparin in der Weise aufgehoben, daß es die obige Umwandlung verhindert. Wie erwähnt, nimmt A. Fischer eine Verhinderung der Bildung von Ionbrücken zwischen den Fibrinogenmolekülen durch Heparinmoleküle an. Durch den von uns hergestellten Leberextrakt wird sowohl die Heparinwirkung als auch die des Janusgrüns behoben bzw. umgekehrt. Nach der Hitzebehandlung kommt ein Enzym als wirksamer Bestandteil des Leberextraktes nicht mehr in Frage, es kann sich höchstens um die Wirkung von hitzestabilen Coenzymen handeln.

Laut Obigem sprechen auch unsere Versuche für die neulich in Entwicklung begriffene Auffassung, daß der Blutgerinnung dem Wesen nach ein enzymatischer Vorgang zugrunde liegt, auf den einzelne Oxydo-Reduktionsprozesse einen entscheidenden Einfluß ausüben. Hier liegt der Grund der von elektronegativen und elektropositiven Indikatorfarbstoffen ausgeübten entgegengesetzten Wirkung. Im Verlaufe der Gerinnung spielt wahrscheinlich auch ein Schwermetallkatalysator eine Rolle. Wir beabsichtigen unsere Untersuchungen auf diese Frage zu erstrecken.

Zusammenfassung.

1. Frühere, einen ähnlichen Gegenstand betreffende Versuche werden fortgesetzt. Blutgerinnungsversuche werden ausgeführt mit der Methode von Albert Fischer, und zwar mit heparinhaltigem und heparinfreiem Kaninchenplasma in der Anwesenheit von Lungenthrombokinase.

2. Die Gerinnung und die früher beobachtete Antiheparinfunktion des Leberextraktes werden von m/500 Kaliumcyanid aufgehoben.

3. Die Gerinnung des Heparinplasmas wird von Ascorbinsäure, Glutathion und Cystein gefördert.

4. Die Antiheparinwirkung des Leberextraktes wird von gewissen Indikatoren gesteigert: am stärksten von Methylenblau, weniger von Safranin und Neutralrot: o-Chlorphenol-indophenol und Phenol-m-sulfonat-indo-2 : 6-dibromphenol wirken im allgemeinen hemmend, gerinnungsverlangsamend.

5. Janusgrün behebt die Gerinnung des frischen Vollblutes sowie die des Heparinplasmas. In der Gesellschaft des Leberextraktes aber gerinnt das mit Janusgrün versetzte Heparinplasma rascher. Der Leberextrakt ruft also eine Umkehrung der Heparin- und Janusgrünwirkung und die Ausflockung des letzteren Farbstoffs hervor.

6. Die Blutgerinnung ist ein enzymatischer Prozeß, der von oxydativen und reduktiven Vorgängen in entscheidender Weise beeinflußt wird; die Wirkung der elektronegativen und elektropositiven Farbstoffe ist entgegengesetzt. Der Glutathion-(Cystein-) Gehalt des Leberextraktes dürfte die Antiheparinwirkung erklären, nicht aber den Antagonismus gegenüber Janusgrün. Die annehmbare Rolle der Schwermetallkatalysatoren soll den Gegenstand späterer Untersuchungen bilden.

Literatur.

1) Tutomu, Aoyama: Okayama-Igakkai Zasshi **51**, 1500—1517 (1939). — 2) Binet, L., G. Weller u. H. Goudard: Presse méd. **1937**, II, S. 1323—1326. — 3) Dickinson, S., R. E. Havard u. B. S. Platt: J. Physiol. (Brit.) **78**, 28 (1933). — 4) Eagle u. Harris: J. gen. Physiol. (Am.) **18**, 531 (1935). — 5) Eagle u. Harris: Ebenda **20**, 548 (1937). — 6) Edlbacher usw.: Hoppe-Seylers Z. **217**, 89 (1933). — 7) Edlbacher usw.: Ebenda **245**, 65 (1936). — 8) Edlbacher usw. Ebenda **250**, 241 (1937). — 9) Fischer, A.: Biochem. Z. **264**, 184 (1933). — 10) Fischer, A.: Ebenda **278**, 133 (1935). — 11) Fischer, A.: Ebenda **279**, 108 (1935). — 12) Haurowitz, F.: Fortschritte d. Biochemie III (1931—1938). Dresden u. Leipzig, Th. Steinkopff. — 13) Hermann: Skand. Arch. Physiol. **76**, 125 (1937). — 14) Jeney, A. v., u. T. Vályi-Nagy: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 701 (1940). — 15) Kollath, W.: Redox-Potentiale, Zellstoffwechsel und Krankheitsforschung. Erg. usw. **21**, 269 (1938). — 16) Koser u. Fr. Georg: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 183—188 (1936). — 17) Kühnau, J., u. Vitalis Morgenstern: Hoppe-Seylers Z. **227**, 145—168 (1934). — 18) Kühnau, J., u. Vitalis Morgenstern: Naturwiss. **1934**, S. 509—510. — 19) Laug, E. P.: J. biol. Chem. (Am.) **106**, 161 (1934). — 20) Lichtmann, A. L., u. W. H. Chambers: Sciences (N. J.) **1938**, II, S. 358—359. — 21) Maschmann, E., u. E. Helmert: Biochem. Z. **280**, 184 (1935). — 22) Mathews, Albert P.: Principles of Biochemistry London, Bailliére, Tindall et Cox 1936. — 23) Michaelis u. Runnström: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **32**, 343 (1934). — 24) Mirsky, A. E.: J. gen. Physiol. (Am.) **18**, 307 (1935). — 25) Mirsky, A. E.: Ebenda **19**, 427—438 (1938). — 26) Mirsky, A. E., u. M. L. Anson: Ebenda **19**, 439—450 (1936). — 27) Platt, B. S., u. S. Dickinson: Biochem. J. **27**, 1069 (1934). — 28) Pringsheim usw.: Biochem. Z. **250**, 209 (1932). — 29) Salaskin u. Solowjew: Ebenda **250**, 503 (1932). — 30) Schmitz: Z. physiol. Chem. **244**, 89 (1936). — 31) Schöberl, A., u. Fr. Krumey: Ber. dtsch. chem. Ges. **71**, 2361—2371 (1938). — 32) Sendroy, Jr., S. S. Seelig u. D. D. van Slyke: J. biol. Chem. (Am.) **106**, 479 (1934). — 33) Sterner, J. H., u. Grace Medes: Amer. J. Physiol. **117**, 92—101 (1936). — 34) Sterner, J. H., u. Grace Medes: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **34**, 597—599 (1939). — 35) Tait, G., u. E. J. King: Biochem. J. **30**, 285 (1936). — 36) Völkel, Walter Conrad Ernst: Hannover, Dissertation 1938. — 37) Waldschmidt-Leitz u. Schäffner: Naturwiss. **19**, 964 (1931). — 38) Waldschmidt-Leitz u. Schäffner: Ebenda **21**, 848 (1933). — 39) Waldschmidt-Leitz u. Schäffner: Hoppe-Seyler Z. **233**, 36 (1935). — 40) Wöhlisch, Edgar: Die Physiologie u. Pathologie der Blutgerinnung. Ergebn. d. Physiologie **28**, 443 (1929).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.
(Direktor: Prof. Dr. E. Frey.)

Über die Wirkung des Strychnins auf den Froschmuskel*.

Von
Dr. phil. **Rudolph Weigmann.**

(Eingegangen am 5. Oktober 1940.)

Einleitung.

Wenn Starkenstein (1938, S. 120) in seinem Lehrbuch ohne Literaturangaben mitteilt, daß Strychnin die Erregbarkeit der Muskeln bei direkter Reizung nicht erhöht, so bezieht er sich dabei wohl auf ältere Untersuchungen (z. B. Hammet, 1916). Daß — im Gegenteil — eine Erhöhung der Muskelzuckung bei indirekter Reizung nach Strychnineinwirkung auftritt, hat bereits Basler (1900) festgestellt. In neuerer Zeit konnte nun Frey (1923) zeigen, daß der Sartorius des Frosches bei direkter Reizung mit dem Induktorium nach Einwirkung von Strychnin größere Zuckungen durchführt. Dabei ist interessant, daß eine Wirkung des Strychnins erst bei einer Konzentration von $1 : 10 \cdot 10^6$ auftritt. Bei konzentrierteren Lösungen wird nur eine lähmende Wirkung beobachtet, die Frey (1923) als eine direkte Wirkung des Strychnins auf den Muskel deutet, während Poulsson (1890) eine curareähnliche Wirkung annimmt.

Es schien mir nun wünschenswert, zunächst einmal die erregungssteigernde Wirkung auf den Muskel bei direkter Reizung zu prüfen; und zwar mit sinusförmigen Wechselströmen, die mit ihrer größeren Nutzzeit den Muskel weniger schädigen als Induktionsströme, voraussichtlich also auch eindeutigere Ergebnisse liefern können. Außerdem versuchte ich die Frage zu klären, ob eine Steigerung der Erregbarkeit des Muskels durch eine fördernde Wirkung des Strychnins auf die motorischen Endplatten - über die ja auch bei direkter Reizung die Erregung auf den Muskel übergeht — zustande kommt oder durch eine direkte Wirkung auf die Muskelsubstanz selbst.

Material und Methoden.

Die Versuche führte ich im Mai und Juni 1940 an *Rana temporaria* L. durch. Von den beiden isolierten Sartorien des gleichen Frosches diente der eine als Kontrollmuskel, während der andere zur Prüfung der Einwirkung des Strychnins verwendet wurde.

* D 7.

Bei den Versuchen befanden sich zunächst beide Muskeln in Ringer; nur zur elektrischen Reizung mußte die Lösung für kurze Zeit entfernt werden. Nachdem einige Kontraktionskurven auf der Rußtrommel registriert waren, wurde bei dem einen Muskel zu der Ringerlösung Strychninnitrat in verschiedenem Verhältnis — von $1:1\cdot10^6$ – $1:80\cdot10^6$ — zugesetzt. In einigen Versuchen benutzte ich die Sartorien von Fröschen, die mit Calebasse-Curare curarisiert waren. Die beiden Muskeln befanden sich dann während des ganzen Versuches in Curarelösung in Ringer; dazu kam bei dem einen Muskel dann wieder Strychnin.

Die Reizung der Muskeln erfolgte mit Hilfe eines Reizschwingungskreises, der im Prinzip eines Senders aufgebaut durch kapazitative und induktive Steuerung des Gitters einer Elektronenröhre ausreichend sinusreiche Wechselströme liefert. Der Anodenstrom wurde potentiometrisch aus dem Lichtnetz entnommen. Die Frequenz läßt sich durch Veränderung der Kapazität des Kondensators oder des Transformators variieren. Ich benutzte meist eine Frequenz von rund 200 Hertz, die für die Dauer eines Versuches konstant gehalten wurde. Zur Reizung waren die beiden Muskeln hintereinander geschaltet, so daß die Stromstärke in beiden Muskeln gleich war. Die Dauer der Reize betrug 5 Sekunden. Zwischen zwei Reizungen lag eine Pause von mindestens 5 Minuten, während der sich die Muskeln in Ringer oder der zu prüfenden Strychninlösung befanden. Die Reizintensität wurde mittels Potentiometer variiert. Die Reizstromstärke bestimmte ich bei konstantem Außenwiederstand. Es wurde in gewissen Zeitabständen das Muskelpaar jeweils mit einem schwellennahen und einem stark überschwelligen, in einigen Versuchen auch noch mit einer mittleren Intensität gereizt. Außerdem ging ich in einer Reihe von Versuchen so vor, daß ich bei ganz kurz dauernden Reizen unmittelbar nacheinander mit Intensitäten reizte, die immer um einen geringen Betrag größer waren. Dabei ließ sich die Reizschwelle festlegen.

Auf den Rußkurven wurde die Höhe der Kontraktion in Millimetern gemessen.

Ergebnisse.

I. Reizung mit schwellennahen, überschwelligen und stark überschwelligen Wechselströmen.

a) Wirkung am nicht curarisierten Muskel.

Die bei den Versuchen gefundenen Zahlen lassen sich hier des großen Umfangs wegen leider nicht mitteilen. Es möge als Beispiel ein Versuch angeführt werden.

Um die auf der Rußkurve gemessenen Ausschlagshöhen für den Kontrollmuskel und den beeinflußten Muskel leichter vergleichen zu können, wurden die in Millimetern gemessenen Werte in Prozente umgerechnet. Dabei nahm ich den Wert vor dem Zufügen der Strychninlösung mit 100% an.

α) Schwellennahe Reize.

In der Tabelle 1 sind in der obersten Reihe die Zeiten angegeben, zu denen der Muskel gereizt wurde. In der zweiten Reihe stehen die Werte

Tabelle 1.

Zeit:	9^{26}	9^{45}	10^{25}	10^{41}	11^{15}	11^{45}	12^{10}	12^{40}	13^{10}
Mit Strychnin ..	100	62	2	92	35	80	6	1	0,0
Kontrollmuskel .	100	85	27	30	13	8	4	5	2,4

für den mit Strychnin beeinflußten Muskel und in der dritten Reihe diejenigen für den Kontrollmuskel. In dem der Tabelle 1 zugrunde liegenden Versuch befand sich ab 9.40 Uhr der eine Muskel in Strychninlösung $1 : 10 \cdot 10^6$. Die Reize waren schwellennahe. Während im Kontrollmuskel die Hubhöhe allmählich absinkt und nur um 10.41 und 12.40 Uhr geringe Anstiege beobachtet werden können, verhält sich der Muskel im Strychnin wesentlich anders. Bei ihm fällt die Hubhöhe zunächst stark ab und nimmt dann von 10.41 Uhr an erheblich zu. 3 Stunden nach der Zugabe von Strychnin ist die Kontraktion des Muskels dann schon wesentlich geringer und um 13.10 Uhr spricht der Muskel überhaupt nicht mehr auf den Reiz an, während der Kontrollmuskel noch eine kleine Zuckung macht.

Kleine Schwankungen in der Hubhöhe lassen sich bei den schwellennahen Reizen des öfteren beobachten, sowohl beim Kontroll- als auch beim Strychninmuskel. Bei der Auswertung des Zahlenmaterials wurden diese selbstverständlich berücksichtigt. Nur dann wurde eine Steigerung der Erregbarkeit (—) anerkannt, wenn die Vergrößerung der Hubhöhe beim Strychninmuskel um mehr als 10 % über der des Kontrollmuskels lag. Trat in dem allmählichen Abfall der Hubhöhe ein Stillstand ein, dem nach einiger Zeit ein erneuter Abfall folgte, so kann dieser Stillstand nur dann als eine Steigerung der Erregbarkeit gewertet werden, wenn gleichzeitig beim Kontrollmuskel ein stetiger Abfall zu beobachten ist. Wenn man diese Gesichtspunkte berücksichtigt, kommen trotzdem noch Fälle vor, bei denen es nicht eindeutig ist, ob eine Steigerung angenommen werden kann, wenn sie auch wahrscheinlich ist. Ich betrachte diese Befunde als fraglich positiv (— ?), oder wenn eine Entscheidung nicht möglich ist, als fraglich (?). Wenn der Muskel auf den Reiz weder mit einer Erregbarkeitssteigerung noch mit einer Lähmung reagierte, d. h. also wenn die Prozente der Hubhöhe im Strychnin- und Kontrollmuskel annähernd gleich sind, oder annähernd parallel abfallen, dann verhält sich dieser Muskel dem Strychnin gegenüber indifferent (–). In einigen Fällen fiel die Hubhöhe in dem Strychninmuskel deutlich rascher ab als im Kontrollmuskel, dann ist eine lähmende Wirkung (—) des Strychnins anzunehmen.

Die Ergebnisse mit schwellennahen Reizen für den nicht curarisierten Muskel sind in Tabelle 2 links zusammengefaßt. Es sind hier nur die nicht in Klammern gesetzten Plus- und Minuszeichen zu betrachten. In den vertikalen Spalten sind die Befunde für die Strychninkonzentrationen von $1 : 1 \cdot 10^6$ bis $1 : 80$ Millionen zusammengestellt. Bei der stärksten Konzentration ($1 : 10^6$) kam es zu einer Lähmung des Muskels. Von einer Strychninlösung $1 : 5 \cdot 10^6$ an ist eine deutliche Erregbarkeitssteigerung bei einigen Versuchen zu beobachten. Einige Muskeln verhalten sich indifferent. Ein Muskel zeigt bei einer Konzentration von $1 : 40 \cdot 10^6$ eine Lähmung (Versuch vom 11. Juni 1940, II). Zwei weitere Versuche mit der gleichen Konzentration ergaben einmal ein indifferentes Verhalten, das andere Mal eine Erhöhung der Erregbarkeit. Ob die Lähmung des einen Muskels

Tabelle 2.

	Strychnin 1 : n · 10^6, schwellennahe							Strychnin 1 : n · 10^6, überschwellig							Strychnin 1 : n · 10^6, stark überschwellig						
	1,0	2,5	5	10	20	40	80	1,0	2,5	5	10	20	40	80	1,0	2,5	5	10	20	40	80
	am nichtcurarisierten Muskel																				
31. V. 1940								−													
18. VI. 1940		? (±)														± (±)					
30. V. 1940			+														+				
3. VI. 1940, I			+														+				
3. VI. 1940, II			+?														±				
4. VI. 1940			?														±				
17. VI. 1940, I			(+)							+? (+)							± (+)				
17. VI. 1940, II			? (+)							(+)							± (±)				
30. V. 1940				±±														±−			
12. VI. 1940				+? (+)							± (−)							± (+)			
13. VI. 1940, I				+ (+)							(+)							+ (+)			
13. VI. 1940, II				? (+)														± (+)			
8. VI. 1940					+? +														+		
14. VI. 1940					(+)														± (+)		
10. VI. 1940						±														+?	
11. VI. 1940, II						−														±	
15. VI. 1940						+							+? (±)							± (±)	
11. VI. 1940							+ (+)							+ (±)							± (+)

Tabelle 2 (Fortsetzung).

	Strychnin $1:n\cdot10^6$, schwellennahe						Strychnin $1:n\cdot10^6$, überschwellig						Strychnin $1:n\cdot10^6$, stark überschwellig					
	1,0	2,5	5	10	20	40	80	1,0	2,5	5	10	20	40	80	1,0	2,5	5	10	20	40	80
	am curarisierten Muskel																				
5. VI. 1940			−																		
19. VI. 1940			?														±	±			
			(+?)														(±)				
6. VI. 1940, I				+?																	
6. VI. 1940, II				+														+	+	±	
20. VI. 1940				−																(±)	
				(+?)																	
7. VI. 1940					+														+	+	
21. VI. 1940						(+)														(+)	

durch das Strychnin erfolgt, oder ob sie in der Eigenart dieses Muskels lag, ließe sich nur durch eine größere Zahl von Versuchen entscheiden.

Es hat also bei Reizung mit schwellennahen Intensitäten das Strychnin wenigstens in einigen Fällen eine deutliche Steigerung der Kontraktionshöhe gezeigt.

β) Überschwellige und stark überschwellige Reize.

In entsprechender Weise, wie bei den schwellennahen Reizen, wurden auch die Hubhöhen (in Prozenten ausgedrückt) für die überschwelligen und stark überschwelligen Reize zusammengestellt. Als Beispiel seien die Zahlen des gleichen Muskelpaares angeführt, das auch zu den der Tabelle 1 zugrunde liegenden Versuchen diente. Die Tabelle 3 zeigt, daß wieder eine Stunde nach der um 9.40 Uhr erfolgten Zugabe von Strychnin $1:10\cdot10^6$ die Hubhöhe des Strychninmuskels zu steigen beginnt. Von 12.45 Uhr an fällt die Hubhöhe dann merklich ab. Schwankungen in der Hubhöhe treten bei den überschwelligen Reizen weniger stark auf als bei den schwellennahen Reizen.

Die Ergebnisse der Versuche mit überschwelligen und stark überschwelligen Reizen am nicht curarisierten Muskel sind in der Tabelle 2 zusammengefaßt. Es zeigt sich auch hier bei der

Tabelle 3.

Zeit:	9^{18}	9^{50}	10^{20}	10^{45}	11^{20}	11^{50}	12^{15}	12^{45}	13^{15}
Mit Strychnin ..	100	66	55	72	48	31	34	16	12
Kontrollmuskel .	100	57	44	30	14	15	11	11	5

Strychninlösung $1 : 10^6$ eine deutliche Lähmung des Muskels. Eine Reihe von Muskeln verhalten sich wieder indifferent und einige zeigen eine Vergrößerung der Zuckungshöhe. In dem ersten Versuch am 30. Mai 1940 trat bei stark überschwelligen Reizen in einer Strychninkonzentratiou $1 : 10 \cdot 10^6$ eine Lähmung auf. Bei der schwellennahen Reizung verhielt sich dieser Muskel indifferent.

γ) Zusammenfassung der Ergebnisse bei Reizung mit schwellennahen und überschwelligen Stromstärken.

Vergleicht man die Ergebnisse bei schwellennahen und überschwelligen Reizen miteinander, so ergibt sich, daß meist eine Steigerung der Zuckungshöhe in beiden Gruppen zugleich auftritt. In einer Lösung $1 : 20 \cdot 10^6$ fand sich am 16. Juni 1940 bei schwellennaher Reizung eine Vergrößerung der Kontraktion, bei der stark überschwelligen Intensität dagegen indifferentes Verhalten. Das gleiche ergaben die Versuche vom 15. Juni und 11. Juni 1940 in Strychnin $1 : 40 \cdot 10^6$ und $1 : 80 \cdot 10^6$. Dabei war im ersteren Versuch bei mittlerer Intensität eine fragliche, beim letzten Versuch eine deutliche Steigerung der Hubhöhe zu beobachten.

Der Zeitpunkt, an dem eine Lähmung des Muskels nach Zugabe des Strychnins auftrat, läßt sich nicht festlegen, da der Muskel in seiner Hubhöhe ganz allmählich ohne scharfe Grenze abnahm. Auch bei den Versuchen, die eine Erhöhung der Reizbarkeit ergaben, trat in den fraglichen Fällen die Steigerung der Hubhöhe gelegentlich allmählich auf. In den deutlich positiven Fällen dagegen ließ sich der Zeitpunkt des Beginns der Wirkung gut festlegen. Meist war dies $1—1^1/_2$ Stunden nach der Zugabe von Strychnin der Fall. Die kürzeste Zeit war 50 Minuten und die längste 4 Stunden. Eine deutliche Beziehung zur Konzentration des Strychnins läßt sich nicht erkennen; es scheint aber die Dauer bis zum Beginn der Reaktion bei den geringsten Konzentrationen ($1 : 40 \cdot 10^6$ und $1 : 80 \cdot 10^6$) größer zu sein (2—4 Stunden) als bei den höheren Konzentrationen. Der niedrigste Wert von 50 Minuten fand sich bei Strychnin $1 : 20 \cdot 10^6$. Auffallend ist, daß die Reaktion bei dem gleichen Muskel bei schwellennahen Reizen etwas früher auftrat als bei überschwelligen.

b) Wirkung am curarisierten Muskel.

Als Beispiel für die Wirkung des Strychnins auf den curarisierten Muskel sei die Tabelle 4a und b für schwellennahe und stark überschwellige Reize hier wiedergegeben. Bei den schwellennahen Reizen fiel von 19.20 Uhr

ab die Hubhöhe allmählich ab, während sie beim Strychninmuskel weit darüber blieb. Bei den stark überschwelligen Reizen begannen die Prozente der Hubhöhen von 20.20 Uhr ab zu divergieren, von 21.20 Uhr ab blieb der Kontrollmuskel um 10 % hinter dem Strychninmuskel zurück.

Tabelle 4.

a) Schwellennahe Reize.

Zeit:	18^{25}	18^{50}	19^{00}	19^{20}	19^{30}	19^{50}	20^{00}	20^{15}	20^{35}	20^{45}	21^{05}	21^{15}	21^{35}	21^{45}
Mit Strychnin .	100	93	97	84	81	64	70	56	61	86	13	17	13	11
Kontrollmuskel	100	87	90	65	64	33	52	8	43	81	0,0	0,0	0,0	0,0

b) Stark überschwellige Reize.

Zeit:	18^{30}	18^{45}	19^{05}	19^{15}	19^{35}	19^{45}	20^{20}	20^{30}	20^{53}	21^{00}	21^{20}	21^{30}	21^{50}
Mit Strychnin .	100	102	103	101	101	100	98	99	98	99	94	94	92
Kontrollmuskel	100	100	104	100	100	98	96	96	91	92	89	84	82

Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tabelle 2 unten zusammengefaßt. Man sieht aus dieser, daß in drei Fällen bei schwellennahen Reizen (5., 20., 21. Juni 1940) eine Lähmung statthat, und zwar bei Strychninkonzentrationen $1 : 5 \cdot 10^6$, $1 : 10 \cdot 10^6$ und $1 : 20 \cdot 10^6$. Bei den überschwelligen Reizen findet sich zu den ersten beiden Versuchen ein indifferentes Verhalten des Muskels und im letzten Falle eine Kontraktionserhöhung. Bei stark überschwelliger Reizung ergibt der Muskel vom 6. Juni 1940 I eine Lähmung, während er bei schwellennahen Reizen eine fragliche Steigerung der Hubhöhe zeigt. Eine Steigerung der Erregbarkeit ergeben die Versuche vom 6. und 7. Juni 1940 bei einer Strychninkonzentration von $1 : 10 \cdot 10^6$ und $1 : 20 \cdot 10^6$, sowohl bei schwellennahen als auch stark überschwelligen Reizen. Der Effekt des Strychnins beginnt in den Versuchen nach $^3/_4$—$3^1{}_4$ Stunden. Eine Beziehung zwischen der Zeit bis zum Beginn der Wirkung und der Konzentration läßt sich mit den wenigen Zahlen nicht aufstellen. Es dauert aber auch in diesen Versuchen wieder bei stark überschwelligen Reizen länger, bis eine Vergrößerung der Zuckungshöhe deutlich wird als bei den schwellennahen Reizen.

Die Ergebnisse mit schwellennahen und überschwelligen Reizen werden noch ergänzt durch Befunde, die bei der „Schwellenbestimmung" erhoben wurden. In der Tabelle 2 sind diese in Klammern angeführt; es soll weiter unten darüber berichtet werden.

II. Schwellenbestimmung.

a) Wirkung am nicht curarisierten Muskel.

Es handelt sich hier nicht um ausschließliche Schwellenbestimmung; es wurden vielmehr die beiden Sartorien mit stufenweise ansteigenden Intensitäten kurzdauernd gereizt. Dabei läßt sich die Reizschwelle einiger-

maßen festlegen, besonders aber ein Herab- oder Heraufrücken sicher beobachten. Die bei den einzelnen Stromintensitäten erzielten Ausschläge der Muskeln, wurden wieder gemessen und in Prozente des Ausgangswertes umgerechnet. Bei der Beurteilung des Zahlenmaterials wurden dieselben Gesichtspunkte berücksichtigt als bei den Versuchen mit schwellennahen und überschwelligen Reizen.

Bei den Versuchen zeigte es sich, daß gelegentlich der eine der beiden Muskeln schon bei niedrigerer Stromstärke erregbar war.

Als Beispiel füge ich hier das Zahlenmaterial zu einem Versuch am 13. Juni 1940, II an (Tabelle 5a). In der Tabelle steigen die Reizstromintensitäten von oben nach unten an. Die Zeiten sind in der obersten waagerechten Reihe angegeben. Von 16.30 Uhr ab befand sich der eine Muskel in Strychnin-Ringerlösung $1 : 10 \cdot 10^6$. Die Zahlen für diesen Muskel sind für die einzelnen Stromstärken jeweils in der oberen waagerechten Reihe, für den Kontrollmuskel in der unteren waagerechten Reihe angeführt. Der Kontrollmuskel war, wie aus der Tabelle 5a ersichtlich, schon bei einer geringeren Stromstärke (0,26 mA) reizbar. Die ersten Zuckungen traten bei dem Strychninmuskel bei 0,27 mA auf. Um die Schwellenwerte dieses Versuches noch etwas klarer übersehen zu können, wurden sie in der Tabelle 5b für die einzelnen Zeiten nochmals zusammen-

Tabelle 5a. (Hubhöhe in Prozenten.)

mA	16^{25}	17^{00}	17^{30}	18^{00}	18^{30}	19^{00}	19^{30}	mA	16^{25}	17^{00}	17^{30}	18^{00}	18^{30}	19^{00}	19^{30}
0,26								0,34	100	91	84	83	85	60	57
	100	11	4	4	0	0	0		100	84	82	77	78	70	69
0,27	100	0	27	0	0	0	0	0,35	100	91	90	88	90	84	71
	100	40	8	22	0	0	0		100	88	86	85	83	77	73
0,28	100	0	33	46	0	0	0	0,36	100	92	93	92	96	91	89
	100	48	33	35	10	0	0		100	89	90	88	87	78	75
0,29	100	56	41	42	0	0	0	0,37	100	95	96	96	98	94	91
	100	65	40	46	17	2	0		100	92	93	91	91	85	82
0,30	100	76	53	50	46	18	0	0,38	100	94	92	94	98	95	88
	100	80	55	58	31	14	5		100	92	93	92	94	91	85
0,31	100	64	59	57	46	28	24	0,39	100	94	93	94	97	95	94
	100	73	67	71	49	23	13		100	92	94	91	93	92	88
0,32	100	68	60	58	52	38	29	0,40	100	97	96	94	98	97	95
	100	78	77	73	73	41	24		100	92	94	91	94	92	90
0,33	100	78	68	67	55	38	37								
	100	83	81	81	74	55	48								

Tabelle 5b. (Schwellenwerte.)

mA							
	0,27	0,29	0,27	0,28	0,30	0,30	0,31
	0,26	0,26	0,26	0,26	0,28	0,29	0,30

gefaßt: in der oberen Reihe stehen wieder die Zahlen für den Strychninmuskel, in der unteren diejenigen für den Kontrollmuskel. Man sieht daraus, daß nach einem halbstündigen Aufenthalt in Strychnin die Reizschwelle von 0,27 mA auf 0,29 mA heraufrückt, dann aber wieder für 1 Stunde zum Ausgangswert zurückkehrt. Von 18.30 Uhr ab geht das Heraufrücken der Schwelle etwa dem des Kontrollmuskels parallel. Abgesehen von dem vorübergehenden Anstieg der Schwelle auf 0.29 mA bleibt im Anfang der Strychnineinwirkung die Schwelle auf der Höhe des Ausgangswertes stehen.

Einen Überblick über das Verhalten der Reizschwelle bei den übrigen Versuchen gibt die Tabelle 6. Hierin sind in der obersten Reihe die Zeiten angeführt, angefangen mit 0 Minuten bei dem Reiz vor Beginn der Strychnineinwirkung. Die Zahlen in den waagerechten Reihen geben die Schwellenstromstärken in mA an (für den Strychninmuskel oben, den Kontrollmuskel unten). Sowohl beim Kontroll- als auch beim Strychninmuskel rückt im Laufe der Versuche die Schwelle stetig in die Höhe. Im großen und ganzen laufen die Schwellenwerte für den Strychnin- und Kontrollmuskel einigermaßen parallel. Schwankungen von 0,01 : 0,02 mA sind bei beiden Muskeln zu beobachten. So liegt auch in dem Versuch vom 17. Juni 1940, I die Erniedrigung der Schwelle nach 1 Stunde unter dem Ausgangswert innerhalb der Schwankungsbreite.

Das Ergebnis der Schwellenbestimmungen zeigt also, daß die Reizschwelle durch das Strychnin nicht beeinflußt wird, weder im Sinne einer Erhöhung noch einer Erniedrigung der Schwelle.

Es sei hier bei der Betrachtung der Tabelle 5a gleich noch darauf aufmerksam gemacht, daß in dem der Tabelle zugrunde liegenden Versuch bei den höheren Reizintensitäten von 18.30 Uhr ab eine Vergrößerung der Zuckungshöhe des Strychninmuskels festzustellen ist. Darauf soll weiter unten noch zurückgegriffen werden.

b) Wirkung auf den curarisierten Muskel.

Die Wirkung des Strychnins auf die Reizschwelle beim curarisierten Muskel geht aus der Tabelle 7 hervor. Diese Tabelle ist in entsprechender Weise wie die Tabelle 6 zusammengestellt. Abgesehen davon, daß die Schwellen beim curarisierten Muskel im ganzen höher liegen als beim nicht curarisierten, hat das Strychnin auch beim curarisierten Muskel keinen Einfluß auf die Reizschwelle.

c) Über die bei der „Schwellenbestimmung" beobachtete Wirkung schwellennaher und überschwelliger Reize.

Da bei der Schwellenbestimmung die Reizintensität stufenweise gesteigert und bis zu ziemlich hohen Stromstärken fortgeschritten wurde, läßt sich das Material auch gleich noch zur Ermittlung einer Steigerung

Tabelle 6.

	0′	20′	30′	40′	1 h	1 h 20′	1 h 30′	1 h 40′	2 h	2 h 20′	2 h 30′	2 h 40′	3 h	3 h 20′	3 h 30′	3 h 40′	4 h	4 h 20′	4 h 30′	4 h 40′
11. VI. 1940, I	0,28						0,31				0,31				0,31				0,30	0,32
	0,30						0,31				0,31				0,34				0,32	0,35
11. VI. 1940, II	0,26					0,29				0,28										
	0,24					0,29				0,28										
12. VI. 1940, II	0,27					0,32				0,32				0,33				0,34		
	0,30					0,31				0,32				0,34				0,34		
13. VI. 1940, I	0,28		0,28		0,29		0,29		0,28		0,29		0,30		0,30					
	0,25		0,25		0,29		0,25		0,25		0,25		0,25		0,26					
14. VI. 1940	0,24	0,25	0,25		0,26		0,26		0,26		0,26		0,27		0,26		0,28		0,26	
	0,26	0,27	0,27		0,27		0,28		0,28		0,28		0,29		0,28		0,28		0,26	
15. VI. 1940, I	0,20		0,21		0,26		0,25		0,26		0,26		0,26		0,26		0,27		0,26	
	0,24		0,24		0,27		0,27		0,27		0,28		0,28		0,28		0,29		0,28	
17. VI. 1940, I	0,22		0,21		0,20		0,22		0,22		0,23		0,24		0,24		0,25		0,25	
	0,25		0,24		0,24		0,24		0,24		0,24		0,24		0,25		0,25		0,25	
17. VI. 1940, II	0,21	0,22		0,22	0,22	0,22		0,23	0,25	0,25		0,25	0,25							
	0,22	0,24		0,24	0,23	0,25		0,26	0,25	0,24		0,25	0,25							
18. VI. 1940	0,27	0,28		0,29	0,28	0,30		0,29	0,29	0,28		0,29	0,29	0,29		0,29	0,29	0,31		
	0,27	0,27		0,28	0,27	0,28		0,28	0,28	0,27		0,27	0,28	0,28		0,28	0,28	0,31		

Tabelle 7.

	0′	20′	40′	1 h	1 h 20′	1 h 40′	2 h	2 h 20′	2 h 40′	3 h	3 h 20′	3 h 40′	4 h	4 h 20′	4 h 40′	5 h	5 h 20′	5 h 40′	6 h	6 h 20′	6 h 40′	7 h
19. VI. 1940	0,31	0,31	0,30	0,32	0,33	0,33	0,34	0,33												0,35		
	0,29	0,29	0,30	0,29	0,31	0,30	0,31	0,31												0,33		
20. VI. 1940	0,30	0,31	0,30	0,31	0,32	0,32	0,33	0,33	0,33	0,35	0,34	0,36	0,37									
	0,30	0,31	0,30	0,32	0,32	0,32	0,32	0,31	0,32	0,33	0,34	0,36	0,37									
21. VI. 1940	0,28	0,29	0,28	0,29	0,29	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,32	0,32	0,33								0,32
	0,27	0,27	0,27	0,26	0,27	0,30	0,29	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,31	0,33								0,32

der Zuckungshöhe mit verwerten, und es lassen sich damit die in Abschnitt I mitgeteilten Befunde ergänzen. Bei der Besprechung der Tabelle 5a und am Ende des Abschnittes I wurde darauf schon hingewiesen. Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tabelle 2 in Klammern angeführt. Man sieht daraus, daß bei schwellennahen Reizen bei den Versuchen vom 17. Juni 1940, I, 13., 14. und 11. Juni 1940, bei den stark überschwelligen Reizen in den Versuchen vom 17. Juni 1940, II, 13. und 15. Juni 1940 Übereinstimmung besteht. Die fraglichen Befunde bei schwellennaher Reizung sind bei den Versuchen vom 17. Juni 1940, II, 12. und 13. Juni 1940, II jetzt positiv zu werten, ebenso der Versuch vom 17. Juni 1940, I mit überschwelligen Reizen. Bei dieser Reizung kommen noch zwei positive Versuche, also mit Vergrößerung der Zuckungshöhe (17. Juni 1940, II und 13. Juni 1940, I) dazu; in den Versuchen vom 15. und 11. Juni 1940 mit stark verdünnten Strychninlösungen verhält sich der Muskel überschwelligen Reizen gegenüber indifferent. In einem Falle (12. Juni 1940) wird an Stelle des indifferenten Verhaltens eine Lähmung gefunden. Bei den stark überschwelligen Reizen kann jetzt der Muskel, der bei der anderen Art der Reizung indifferent war, als erregbarer betrachtet werden (17. Juni 1940, I, 12. Juni 1940, II, 13. Juni 1940, II und 11. Juni 1940).

Bei den curarisierten Muskeln findet sich bei schwellennaher Reizung in zwei Fällen an Stelle der Lähmung eine Zuckungssteigerung, einmal allerdings fraglicher Art. Es ließe sich als Erklärung dafür höchstens die Verschiedenheit der Methode anführen, die auch die anderen Verschiedenheiten in den Ergebnissen verursachen könnte.

Die Befunde bei den stark überschwelligen Reizen stimmen mit den in Abschnitt I erhobenen überein. Die Zeit bis zum Eintritt einer Wirkung nach dem Zusatz von Strychnin entspricht etwa der im Abschnitt I angegebenen.

Es läßt sich also die Tatsache feststellen, daß auch mit dieser etwas abgeänderten Art der Reizung die Zuckungshöhe des Muskels — und zwar auch des curarisierten — durch stark verdünnte Strychninlösungen in zahlreichen Fällen gesteigert wird.

Anhang: Wirkung des Curare (allein) auf die Reizschwelle und auf stark überschwellige Reize.

Schon bei den oben angeführten Strychninversuchen am curarisierten Muskel zeigte sich, daß die Reizschwelle höher lag als beim nicht curarisierten Muskel. In einem Versuch wurde, um diese Erscheinung weiter zu verfolgen, von einem Paar Sartorien der eine in Ringerlösung mit 0,0004 % Calebassencurare gebracht; der Kontrollmuskel verblieb in Ringerlösung. An dem Muskelpaar wurden Schwellenbestimmungen in der gleichen Weise durchgeführt, wie bei den Versuchen im vorhergehenden Abschnitt.

Tabelle 8.

Oberer Muskel: ab 8.55 Uhr in Curare 0,0004 %; ab 11.15 Uhr in Ringer; unterer Muskel: Ringer.

a) Hubhöhe in Prozenten.

mA	8^{20}	8^{40}	9^{00}	9^{20}	9^{40}	10^{00}	10^{20}	10^{40}	11^{00}	11^{20}	11^{40}	12^{00}	12^{20}
0,23	100	100	53	46	3	0	0	0	0	0	0	0	0
0,24	100	82	62	36	19	5	1	0	0	0	0	0	0
0,25	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	99	76	50	23	16	9	3	0	1	0	0	0
0,26	100	145	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	97	81	65	49	20	21	6	2	4	0	0	0
0,27	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	96	81	69	59	37	29	12	4	5	1	3	3
0,28	100	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	88	78	64	55	43	36	23	7	20	4	15	7
0,29	100	53	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	89	82	76	64	52	49	29	17	35	28	24	20
0,30	100	78	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	81	77	68	67	56	51	36	28	40	34	39	25
0,31	100	88	85	3	79	0	0	0	0	0	0	0	0
	100	91	89	85	83	69	64	53	42	51	47	42	38
0,32	100	94	90	83	88	1	0	0	0	0	0	0	1
	100	92	91	86	85	78	72	59	51	56	51	49	43
0,33	100	95	92	91	87	79	53	0	0	38	20	54	5
	100	90	91	89	85	81	76	62	56	69	66	60	53
0,34	100	94	89	90	86	84	81	81	35	75	52	78	33
	100	91	87	87	83	82	76	78	68	73	69	67	61
0,35				100	96	98	87	92	55	83	80	77	74
				100	96	98	89	89	79	86	84	79	78
0,36				100	96	97	94	88	83	77	79	69	77
				100	97	97	95	90	85	75	85	78	79

b) Schwellenwerte.

mA	0,25	0,25	0,29	0,31	0,31	0,32	0,33	0,34	0,34	0,33	0,33	0,33	0,32
mA	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,25	0,26	0,25	0,27	0,27	0,27

Das Ergebnis dieser Versuche ist aus der Tabelle 8 ersichtlich. Es sind die Werte für den curarisierten Muskel in der Tabelle 8a bei den einzelnen Stromstärken jeweils in der oberen Horizontalreihe angeführt. Um 8.55 Uhr wurde das Curare zugesetzt.

Die Reizschwelle stieg schon 5 Minuten nach dem Zusatz von Curare an und erreichte etwa $1^1/_2$ Stunden später den höchsten Wert, der dann bis zum Ende des Versuches etwa konstant blieb (vgl. Tabelle 8b).

Bei Reizen mit stark überschwelligen Reizen blieb der curarisierte Muskel in der Kontraktionshöhe nicht hinter dem Kontrollmuskel zurück.

Zusammenfassung und Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Versuche über die Einwirkung des Strychnins auf den Muskel ergaben folgendes:

1. Bei Reizung der Sartorien des Frosches mit sinusförmigen Wechselströmen zeigt der mit Strychnin behandelte Muskel gegenüber der Kontrolle sowohl bei schwellennahen, als auch bei überschwelligen Strömen in mehreren Fällen eine deutliche Steigerung der Zuckungshöhe.

2. Die Effekte sind deutlich bei Strychninlösungen von $1:5\cdot10^6$ bis $1:80\cdot10^6$. Gegenüber konzentrierteren Lösungen verhält sich der Muskel wie der Kontrollmuskel oder er wird durch sie gelähmt.

3. Die Reizschwelle für Wechselstrom wird durch Strychnin nicht beeinflußt.

4. Es dauert bei überschwelligen Reizen länger, bis die Strychninwirkung eintritt, als bei schwellennahen.

5. Der curarisierte Muskel verhält sich dem Strychnin gegenüber ähnlich wie der nicht curarisierte.

6. Curare allein erhöht die Reizschwelle des Muskels, verändert jedoch nicht die Zuckungshöhe bei stark überschwelligen Reizen.

In dieser Untersuchung konnte also die schon von Frey (1923) gefundene Steigerung der Zuckungshöhe des Froschmuskels durch Strychnineinwirkung bestätigt werden. Es zeigte sich aber in meinen Versuchen, daß eine Vergrößerung der Hubhöhe auch bei höheren Konzentrationen und bei viel geringeren noch zu beobachten ist.

Die Frage ist nun, ob die Steigerung der Kontraktionshöhe des Muskels durch das Strychnin dadurch zustande kommt, daß die Nervenendplatten, die ja zuerst von der elektrischen Reizung erfaßt werden und die Erregung auf den Muskel weitergeben, durch das Strychnin erregbarer werden, oder dadurch, daß das Strychnin die Muskelsubstanz selbst beeinflußt. Die Versuche mit Curare werfen auf diese Frage etwas Licht. Zunächst einmal konnte in dem Versuch, in dem die Curarewirkung allein auf den Muskel geprüft wurde, festgestellt werden, daß sicher die elektrischen Reize zunächst — bei niedrigen Stromstärken — über die Endplatten auf die Muskelfasern übergehen. Denn durch Curare wird zwar die Reizschwelle erhöht, die Hubhöhe bei stark überschwelligen Reizen dagegen nicht beeinflußt. Nach der Ausschaltung der Endplatten durch Curare ergibt aber das Strychnin wenigstens in einigen Fällen eine Steigerung der Zuckungshöhe bei elektrischer Reizung. Man kann somit als sicher annehmen, daß das Strychnin an der Muskelsubstanz angreift. Dafür spricht

auch, daß die Reizschwelle durch das Strychnin unbeeinflußt bleibt, denn wir müßten ja bei einer Steigerung der Erregbarkeit der Endplatten ein Herunterrücken der Schwelle erwarten.

Gerade aus der gegensätzlichen Wirkung von Strychnin und von Curare, bei der das Strychnin die Schwelle unverändert läßt, die Zuckungshöhe vergrößert, Curare die Schwelle erhöht, die Zuckungshöhe unverändert läßt, geht ja deutlich hervor, daß Curare die Endplatten, die bei schwacher Reizung die Reize auf den Muskel übertragen, lähmt, während die Vorgänge im Muskel nicht beeinflußt werden (gleiche Zuckungshöhe des Curare- und Kontrollmuskels bei stark überschwelligen Reizen). Während umgekehrt das Strychnin nicht auf die Endplatten einwirkt, dagegen in die Stoffwechselvorgänge bei der Muskelkontraktion eingreift, indem im Beginn der Strychnineinwirkung die Zuckungen erhöht werden und später eine Lähmung zustande kommt.

Literatur.

Basler, A.: Arch. ges. Physiol. **122** (1900). — Frey, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **98** (1923). — Poulsson, E.: Ebenda **26** (1898). — Starkenstein, E., u. Mitarbeiter: Lehrbuch der Pharmakologie, Toxikologie und Arzneiverordnung. Wien 1938.

Aus dem Physiologischen und Allg. Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Die Wirkung von Ergotoxin, 933 F, Cocain und Aminopyrocatechin auf den O_2-Verbrauch der Kaninchengewebe.

Von

K. Piribauer und **L. Kesztyüs.**

(Eingegangen am 18. September 1940.)

Bayer und Wense (1) nehmen an, daß der Einfluß des Ergotoxins, der Fornaeuschen Sympathicolytiken (883 F, 933 F) und des Cocains auf die pharmakologische Wirkung des Adrenalins darin besteht, daß der fermentativ-oxydative Abbau des letzteren durch die genannten Wirkstoffe beschleunigt bzw. gehemmt wird. Es wurde in diesen Versuchen festgestellt, daß das Cocain die durch die Kartoffeltyrosinase bei Anwesenheit von Acetaldehyd hervorgerufene oxydative Adrenalininaktivierung bedeutend hemmt, wogegen das Ergotamin und Piperidinomethylbenzoldioxan beschleunigend wirken. Zur selben Zeit teilte auch Lissák (2) mit, daß das 933 F den oxydativen Abbau des Adrenalins in vitro beschleunigt und daß der Abbau des Adrenalins durch das Cocain in vivo stark gehemmt wird.

Wir versuchten nun die Frage zu entscheiden, ob die genannten Substanzen nur die Tyrosinasewirkung beeinflussen oder ob dieselben eine allgemeine oxydationsbeschleunigende bzw. hemmende Wirkung ausüben. Neben dem Ergotoxin, 933 F und Cocain haben wir auch die Wirkung des von Went und Kesztyüs (3) hergestellten Aminopyrocatechins untersucht, da letzteres in Versuchen von Went, Lissák und Kesztyüs* an Straub-Herz in einer Konzentration von 1 : 10000 die Wirkung positiv wirkender Substanzen (Adrenalin, Histamin, Na-Oleinat) gehemmt bzw. in Blutdruckversuchen, ähnlich dem Cocain, eine Verlängerung der Adrenalinreaktion hervorgerufen hat.

Wir haben zur Klärung dieser Frage eine Reihe von Untersuchungen nach der Methode von Warburg durchgeführt. Die Leber und verschiedene Muskeln von Kaninchen waren in einer Latapie-Schneidemaschine zermahlen und der Brei bei Anwesenheit von Phosphatpuffer (p_H = 7,1–7,2) mit Kreps Ringer verrieben. Der O_2-Verbrauch der gewonnenen 40%igen Gewebssuspensionen wurde ohne und nach Zugabe der obengenannten Wirkstoffe untersucht. Die Atmung solcher Gewebsemulsionen zeigte während einer Stunde eine Abnahme von etwa 5–10%. Die die Verhinde-

* Noch nicht mitgeteilte Untersuchungen.

rung dieser Abnahme des O_2-Verbrauches bezweckende und bei anderen Untersuchungen gut bewährte Succinat- und Fumaratzugabe konnte bei diesen Versuchen nicht angewendet werden, weil es in einigen Fällen die oxydationssteigernde Wirkung der untersuchten Wirkstoffe verdeckt hat. Eine derartige Senkung des O_2-Verbrauches beeinflußte übrigens kaum oder überhaupt nicht die Ergebnisse solcher vergleichenden Untersuchungen.

Bei den mit Ergotoxin vorgenommenen Untersuchungen haben wir das Präparat „Ergotoxine ethanesulphonate" der Burroughs Wellcome & Co.-Werke benutzt. Den Einfluß des Ergotoxins auf den O_2-Verbrauch der Kaninchenleber- und Muskelgewebe zeigen die Tabellen 1 und 2.

Tabelle 1.

Nr.	O_2-Verbrauch in cmm Konzentration des Ergotoxins				
	0	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
1	427,9 100 %			447,6 105 %	438,9 103 %
2	474,1			499,2 105 %	484,9 102 %
3 *	159,5 100 %	163,9 103 %	203,4 122 %		
4	305,0 100 %	371,0 121 %	386,5 127 %		
5	436,2 100 %	558,4 127 %	555,0 127 %		
6	578,1 100 %	626,3 109 %	647,8 112 %		

* 20%iger Muskelbrei.

Tabelle 2.

Nr.	O_2-Verbrauch in cmm Konzentration des Ergotoxins		
	0	10^{-5}	10^{-6}
7	708,0 100 %		
8	803,0 100 %	878,2 109 %	904,6 113 %
9	1112,6 100 %	1169,8 102 %	1314,1 116 %
10	1074,2 100 %	1228,8 114 %	1268,8 118 %
11	1034,5 100 %	1073,4 104 %	1095,2 106 %

Wie aus der Tabelle 1 ersichtlich ist, wird der O_2-Verbrauch des Kaninchenmuskels durch Ergotoxin in den Konzentrationen von 10^{-5} und 10^{-6} bedeutend erhöht; in höheren Verdünnungen blieb der O_2-Verbrauch der Muskelsuspensionen unverändert. Nach den Versuchen scheinen die 3—27%ige Steigerung hervorrufenden 10^{-5}- und 10^{-6}-Konzentrationen optimalen Einfluß auf die Oxydation zu haben. Bezüglich der Atmung des Kaninchenleberbreies zeigt die Tabelle 2 ähnliche Resultate. Konzentrationen von 10^{-7} und 10^{-8} waren völlig unwirksam, wogegen eine Konzentration von 10^{-5} um 4—14%, die von 10^{-6} um 6—18% steigernd auf den O_2-Ver-

brauch wirkte. In den von Bayer und Wense (1) vorgenommenen Versuchen haben ebenfalls die 1 : 100000 verdünnten Ergotoxinlösungen die stärkste fördernde Wirkung auf die oxydative Inaktivierung des Adrenalins ausgeübt. Auch Ahlgren (4) teilt, ohne die Ergebnisse zahlenmäßig anzugeben, mit, daß in Anwesenheit von niedrigeren Ergotoxinkonzentrationen die Gewebsatmung bedeutend erhöht wird.

Bei den mit 933 F vorgenommenen Versuchen haben wir das von Bovet hergestellte Piperidinomethylbenzoldioxanpräparat benutzt. Den Einfluß des 933 F auf die Atmung der Muskelgewebe zeigt die Tabelle 3.

Tabelle 3.

Nr.	O_2-Verbrauch in cmm Konzentration des 933 F								
	0	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}
23 *	186,3 100 %	205,7 110 %	189,8 102 %						
24	464,4 100 %		510,9 110 %	475,7 102 %					
25	367,6 100 %			362,1 99 %			478,9 130 %		
26	481,6 100 %				493,3 100 %			608,6 126 %	
27	446,9 100 %				471, 0 105 %	468,0 105 %	572,4 128 %	514,3 115 %	
28	462,7 100 %					476,0 103 %	499,1 108 %	510,9 111 %	482,4 104 %
29 *	205,4 100 %						226,1 110 %	216,4 105 %	

* 20%iger Muskelbrei.

Wie aus den Ergebnissen der Tabelle 3 hervorgeht, ist das 933 F in Konzentrationen von 10^{-3} – 10^{-7} unwirksam, bei 10^{-8} und 10^{-9} dagegen erhöht dasselbe den O_2-Verbrauch des Muskelbreies mit 8 – 30%. Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse der mit Lebersuspensionen und 933 F durchgeführten Versuche.

Wie aus der Tabelle 4 ersichtlich ist, war das 933 F in 10^{-3}—10^{-6}-Konzentrationen auf die Atmung des Leberbreies unwirksam, während die Konzentrationen von 10^{-7} und 10^{-8} den O_2-Verbrauch mit 6 – 30% erhöht haben; in höheren Verdünnungen blieb das 933 F ebenfalls unwirksam. Die Beobachtungen von Bayer (1) und Lissák (2) können somit mit der Feststellung ergänzt werden, daß die Wirkung des 933 F nicht nur in einer Förderung der Adrenalinoxydation besteht, sondern daß es in bestimmten Konzentrationen auch eine allgemeine steigernde Wirkung auf die Gewebsoxydationen ausübt.

Tabelle 4.

Nr.	O_2-Verbrauch in cmm Konzentration des 933 F								
	0	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}
12	1041,4 100 %	1001,6 96 %	1020,8 98 %						
13	1046,6 100 %	996,8 95 %	1028,0 98 %						
14	836,4 100 %	832,6 100 %	868,0 104 %	866,5 104 %	867,6 104 %				
15	927,8 100 %			944,9 102 %	944,4 102 %				
16	833,8 100 %					949,0 114 %	942,5 113 %		
17	771,2 100 %					874,0 113 %	848,4 110 %		
18	719,0 100 %					788,2 110 %	761,6 106 %		
19	436,0 100 %	437,1 100 %					567,7 130 %		
20	837,4 100 %					905,1 108 %	937,3 112 %		
21	783,7 100 %					921,3 118 %	928,8 118 %	861,0 110 %	860,8 110 %
22	926,1 100 %							949,5 102 %	937,0 101 %

Es wurde weiter die Wirkung des Cocains (Cocainhydrochlorid Merck) auf den O_2-Verbrauch von Kaninchenorganen untersucht. Unsere diesbezüglichen Ergebnisse sind in den Tabellen 5 und 6 wiedergegeben.

Es geht aus den Tabellen 5 und 6 hervor, daß das Cocain in den untersuchten Konzentrationen auf die Atmung der Leber und Muskelgewebe keinen Einfluß hat. Die Feststellung von Ahlgren (4), nach der das

Tabelle 5.

Nr.	O_2-Verbrauch in cmm Konzentration des Cocainhydrochlorids								
	0	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}
30	369,1 100 %	369,2 100 %	371,0 100 %	371,0 105 %	368,8 100 %				
31	374,3 100 %	384,8 102 %	392,5 105 %	378,7 101 %	398,4 106 %				
32	440,2 100 %					429,2 97 %	451,5 102 %	437,5 99 %	
33	393,1 100 %					403,3 103 %	407,2 103 %	414,3 106 %	384,6 98 %

Tabelle 6.

Nr.	O_2-Verbrauch in cmm Konzentration des Cocainhydrochlorids						
	0	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
34	695,2 100 %	696,7 100 %	651,0 94 %				
35	956,6 100 %	930,8 97 %	945,2 98 %				
36	757,4 100 %			768,0 101 %	747,4 99 %		
37	675,5 100 %			681,9 101 %	665,0 99 %	680,4 101 %	670,9 99 %

Cocain in niedrigeren Konzentrationen die Gewebsatmung bedeutend erhöht, konnte also in diesen Untersuchungen nicht bestätigt werden. Die von Bayer und Wense (1) in vitro und von Lissák (2) in vivo beobachtete, den oxydativen Abbau des Adrenalins hemmende Wirkung des Cocains soll also als eine spezielle, nur die Tyrosinasewirkung beeinflussende negative Katalisation aufgefaßt werden.

Wir haben schließlich die Wirkung des Aminopyrocatechins auf die Atmung von Muskel- und Lebergewebe untersucht. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 7 und 8 zusammengefaßt.

Tabelle 7.

Nr.	O_2-Verbrauch in cmm Konzentration des Aminopyrocatechins								
	0	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}
38	485,5 100 %	302,9 62 %	485,4 100 %						
39	392,5 100 %	273,8 70 %	392,0 100 %	412,9 105 %					
40	512,7 100 %		484,7 94 %	507,5 99 %	528,4 103 %	524,3 102 %			
41	519,5 100 %					540,2 104 %	532,0 102 %	511,5 99 %	
42	446,5 100 %						472,5 106 %	405,0 91 %	404,2 91 %

Tabelle 7 zeigt, daß in Gegenwart von höheren (10^{-3})-Konzentrationen des Aminopyrocatechins die Atmung des Muskelbreies mit 30—38 % herabgesetzt wird. In niedrigeren Konzentrationen war dieselbe Substanz auf den O_2-Verbrauch völlig unwirksam. Den Einfluß des Aminopyrocatechins auf den O_2-Verbrauch des Leberbreies zeigt die Tabelle 8.

Wie aus der Tabelle 8 ersichtlich ist, setzte das Aminopyrocatechin den O_2-Verbrauch der Lebergewebe ebenfalls in einer Konzentration

Tabelle 8.

Nr.	O_2-Verbrauch in cmm Konzentration des Aminopyrocatechins								
	0	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}
43	1024,2 100 %	882,8 86 %	1039,9 101 %						
44	823,8 101 %	518,0 63 %	788,1 96 %		827,9 100 %	818,1 99 %			
45	616,4 100 %	399,3 65 %	678,0 110 %						
46	538,3 100 %	340,0 63 %		583,2 108 %					
47	735,4 100 %			691,9 95 %			763,0 104 %	728,0 99 %	727,3 99 %
48	700,0 100 %				686,8 98 %	740,0 106 %	707,0 101 %	690,0 99 %	

von 10^{-3} mit 14—37 % herab, während höhere Verdünnungen auf die Gewebsatmung keinen erheblichen Einfluß hatten. — Auf Grund dieser Ergebnisse kann die von Went und Mitarbeitern am Froschherz beobachtete Hemmung der Adrenalin-, Histamin- und Na-Oleinatwirkung damit erklärt werden, daß das Aminopyrocatechin durch eine Hinderung der Oxydationsprozesse den Froschherzmuskel derart schädigt, daß neben Überbleiben der Kontraktionen die Höhe und Frequenz derselben nicht mehr gesteigert werden kann. Die beim Blutdruck beobachtete protrahierte Adrenalinreaktion kann dementgegen damit erklärt werden, daß sich die allgemeine oxydationshemmende Wirkung des Aminopyrocatechins auch auf den durch die Tyrosinase bei Anwesenheit von Acetaldehyd herbeigeführten oxydativen Abbau des Adrenalins erstreckt.

Es kann auf Grund der mitgeteilten Untersuchungen festgestellt werden, daß in Gegenwart von niedrigeren Konzentrationen der die Adrenalinwirkung hemmenden Wirkstoffe — wie Ergotoxin und 933 F — die Gewebsoxydationen bedeutend erhöht werden. Die Beobachtungen von Bayer und Wense (1), weiter von Lissák (2) über die den oxydativen Abbau des Adrenalins fördernde Wirkung dieser Substanzen soll also als ein Teil des allgemeinen oxydationsfördernden Einflusses der erwähnten Substanzen aufgefaßt werden. Die Frage, auf welche Art und mit welchem Angriffspunkt das Ergotoxin und das 933 F die Steigerung des O_2-Verbrauches der untersuchten Gewebe hervorruft, läßt sich noch nicht beantworten. Jedenfalls weisen auch diese Beobachtungen darauf hin, daß bei der durch das Ergotoxin und 933 F in vivo beobachteten Hemmung der Adrenalinwirkung mit dem oxydationssteigernden Effekt dieser Substanzen gerechnet werden muß.

Das Cocain hat in den von Bayer und Wense (1) in vitro und von Lissák (2) in vivo vorgenommenen Versuchen die durch die Tyrosinase

hervorgerufene oxydative Adrenalininaktivierung gehemmt. Diese oxydationshemmende Wirkung ist aber nach unseren Untersuchungen nicht von allgemeiner Natur, obzwar Ahlgren in seinen nach der Thunbergschen Methode durchgeführten Untersuchungen bei niedrigeren Cocainkonzentrationen (1 : 4000000) die Steigerung der Gewebsatmung beobachten konnte. Nachdem aber über die letzteren, im Jahre 1924 vorgenommenen Versuche bisher noch keine ausführliche Mitteilung erschienen ist, so bleiben die Ergebnisse über diese Cocainwirkung sehr problematisch. In unseren Untersuchungen hat das Cocain jedenfalls auf den O_2-Verbrauch der Gewebssuspensionen keinen Einfluß gehabt.

Durch das Aminopyrocatechin wurde bei verhältnismäßig guten Kontraktionen der Einfluß positiv wirkender Substanzen auf das Straubherz gänzlich aufgehoben. Nachdem daneben die Atmung der Gewebssuspensionen durch Aminopyrocatechin stark herabgesetzt wird, so scheint unsere Annahme berechtigt zu sein, daß das Aufhören der Reaktionsbereitsschaft der Froschherzen gegen positiv wirkende Substanzen mit der Abnahme der Oxydationen im Muskelgewebe in Zusammenhang gebracht werden kann. Mit diesem oxydationshemmenden Einfluß kann auch die bei den Blutdruckuntersuchungen der Säugetiere beobachtete verlängerte Adrenalinreaktion erklärt werden.

Zusammenfassung.

In Gegenwart von niedrigeren Konzentrationen des Ergotoxins und 933 F wurde der O_2-Verbrauch von Kaninchenmuskel- und Leberemulsionen bedeutend erhöht; Cocain blieb dagegen in allen untersuchten Konzentrationen völlig unwirksam. Aminopyrocatechin wirkte steigernd auf den O_2-Verbrauch der Organsuspensionen. Die auf die Oxydationen entfaltete Wirkung der untersuchten Substanzen scheint mit deren Einfluß auf die Adrenalinreaktion der Organe in enger Beziehung zu stehen.

Literatur.

1) Bayer, G., u. Th. Wense: Arch. internat. Pharmacodynam. **58**, 103 (1938). — 2) Lissák, K.: Amer. J. Physiol. **123**, 404 (1938); **125**, 765 (1939). — 3) Went, St., u. L. Kesztyüs: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 609 (1939). — 4) Ahlgren, G.: Klin. Wschr. **1924**, S. 667.

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Ca- und K-Gehalt der Nerven bei lokalem Tetanus.

Von

B. Rex-Kiss und **K. Lissák.**

(Eingegangen am 18. September 1940.)

Wir haben in unseren früheren Mitteilungen (1, 2, 3) über den Mineralstoffwechsel tetanisierter, parathyreopriv-tetanischer und strichninvergifteter Hunde und Kaninchen berichtet und stellten fest, daß die unter diesen Zuständen auftretende Steigerung der Blut-Ca- und anorganischen P-Werte nicht als Ursache, sondern erst als Folge des Tetanuszustandes anzusehen ist.

Bezüglich des Wirkungsmechanismus des Tetanustoxins haben wir die Ansicht vertreten, daß das Toxin vom Infektionsort durch die Blut- und Lymphbahn des Zentralnervensystems und die entfernten Muskeln erreicht, wo es dann örtlich sowohl auf die Synapsen des Zentralnervensystems, wie auch auf die in den Muskeln befindlichen Nervenendigungen seine Wirkung entfaltet Nach unserer Annahme ist also bei Tetanus die synaptische und neuromuskuläre Transmission gestört. — Die Frage, wieweit durch diese Störungen der Ca- und K-Gehalt der Nerven beeinflußt wird, versuchten wir in unseren nachfolgenden Untersuchungen zu klären.

Über den Ca- und K-Gehalt der Nerven im Tetanus sind bisher keine Mitteilungen vorhanden. In letzter Zeit hat Fenn (4) bei Katzen nach einer in situ mit 50—100 Hertz 30 Minuten hindurch andauernden Reizung des N. ischiadicus dessen K- und Wassergehalt bestimmt und fand dieselben unverändert.

Unsere Versuche waren an Katzen durchgeführt. Auf der einen Seite wurden in den M. gastrocnemius 0,4 ccm Tetanustoxin injiziert, nach Auftreten des lokalen Tetanus die Tiere durch einen auf den Kopf versetzten Schlag getötet, ein Stück des N. ischiadicus beiderseits ausgeschnitten und auf einer Torsionswaage abgewogen. Die Nerven wurden nach dem Verfahren von Simon und Szelöczey (5) im Platintiegel verascht und die Asche in kochendem destilliertem Wasser gelöst. Die Ca- und K-Bestimmungen waren nach Kramer und Tisdal, die Ca-Bestimmungen außerdem auch durch die Methode von Méhes (6) durchgeführt. Letztere besteht einer Zerstörung der Nerven mit rauchender Salpetersäure und 30%igem Wasserstoffsuperoxyd. Diese Methode bewährte sich recht gut zur Bestimmung des Ca-Gehaltes der Nerven.

Tabelle.

	N. ischiadicus	Gewicht in mg	Ca in mg%	K in mg%	Abweichung vom Normal in %	Tage nach Einführung des Toxins*
1	Tetanisch	212,0	10,2	279,0	Ca: — 16,0	5
	Normal	230,0	13,8	247,0	K: + 13,0	
2	Tetanisch	180,0	13,6	242,2	Ca: — 19,1	5
	Normal	173,0	16,8	248,6	K: — 2,6	
3	Tetanisch	143,0	13,5	259,0	Ca: — 38,6	6
	Normal	140,0	22,0	271,0	K: — 4,4	
4	Tetanisch	160,0	12,8	281,0	Ca: — 22,0	6
	Normal	164,0	16,4	263,0	K: + 10,6	
5	Tetanisch	215,0	13,0	271,2	Ca: — 26,2	6
	Normal	212,0	17,6	262,8	K: + 3,9	
6	Tetanisch	308,0	12,6	246,7	Ca: — 27,6	8
	Normal	310,0	17,4	256,1	K: — 3,7	
7	Tetanisch	200,0	15,6	263,5	Ca: — 25,4	8
	Normal	190,0	20,9	283,0	K: — 6,9	
8	Tetanisch	230,0	14,4	254,4	Ca: — 23,8	8
	Normal	245,0	18,9	254,6	K: — 0	

* 0,5 ccm Tetanustoxin in den linken Gastrocnemius.

Es geht aus der Tabelle hervor, daß bei lokalem Tetanus des M. gastrocnemius der K-Gehalt des N. ischiadicus unverändert blieb, wogegen der Ca-Gehalt der Nerven an der tetanisierten Seite eine Abnahme von 16,0—38,6 % zeigte.

Da Fenn (4) in seinen Versuchen keine Ca-Bestimmungen vorgenommen hat, so wissen wir nicht, ob diese Senkung des Ca-Gehaltes der Nerven auch bei durch elektrische Reizung hervorgebrachten Tetanus zustande kommt. Bemerkenswert ist, daß während der K-Gehalt sowohl in den von Fenn, wie auch von uns vorgenommenen Versuchen unverändert blieb, kommt nach Cowan (7) und Young (8) bei Elektrotetanisierung der marklosen Nerven des Limulus polyphemus eine Senkung des K-Gehaltes zustande. Dieselben Veränderungen konnte Vogt (9) bei Hunden in den oberen zervikalen Ganglien beobachten.

Bekanntlich wird den K-Ionen in der ganglionären Transmission und in der Membrantheorie der Reizleitung eine entscheidende Rolle zugeschrieben. Nachdem aber der K-Gehalt der Nerven sowohl bei dem durch Toxin hervorgerufenen, wie auch auf elektrische Reizung auftretenden Tetanus unverändert bleibt, während der Ca-Gehalt wenigstens im Falle des Toxintetanus — bedeutend sinkt, so wäre es wünschenswert, in den obigen Beziehungen auch die Rolle der Ca-Ionen zu klären.

Zusammenfassung.

Bei dem lokalen Tetanus des M. gastrocnemius von Katzen konnte zwischen der tetanisierten und normalen Seite im K-Gehalt des N. ischiadicus kein wesentlicher Unterschied beobachtet werden. Der Ca-Gehalt der tetanisierten Nerven zeigte dagegen eine Abnahme von 16—38%.

Literatur.

1) Lissák, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 425 (1934). — 2) Lissák, K., u. B. Rex-Kiss: Arbeiten der II. (Medizinisch-Naturwissenschaftlichen) Abteilung der Wissenschaftlichen Stefan-Tisza-Gesellschaft in Debrecen **6**, 225 (1936). — 3) Lissák, K., u. B. Rex-Kiss: Magyar Orvosi Archivum **39**, 4 (1938). — — 4) Fenn, W. O.: J. Neurophysiol. **1**, 1 (1938). — 5) Simon, A., u. J. Szelöczey: Biochem. Z. **193**, 393 (1928). — 6) Méhes, Gy., T. Vályi-Nagy u. L. Sokoray: Arbeiten des Ungarischen Biologischen Forschungs-Institutes **8**, 318 (1936). — 7) Cowan, S. L.: Proc. Roy. Soc., Lond., Ser B: Biol. Sci. **115**, 216 (1934). — 8) Young, A. C.: J. Neurophysiol. **1**, 4 (1938). — 9) Vogt, M.: J. Physiol. (Brit.) **86**, 258 (1936).

Aus der Medizinischen Universitätspoliklinik Breslau.
(Leiter: Prof. Dr. A. Bittorf.)

Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens.

II. Experimentelle Untersuchungen. Der Einfluß der Campher-gruppe auf den Kohlehydratgehalt des Herzens.

Von

Hans Liebig.

(Eingegangen am 8. September 1940.)

Über die Beziehungen des Camphers und der campherähnlichen synthetischen Präparate zum Stoffwechselgeschehen und insbesondere zum Kohlehydratstoffwechsel ist nur wenig bekannt.

Haendel und Munilla[1] sahen nach 10 ccm Hexeton intraperitoneal beim Hund — eine Dosis, die nach 15 Minuten unter den Erscheinungen schwerer Atemnot und epileptiformer Krämpfe den Tod des Tieres zur Folge hatte — eine starke Verminderung des Glykogens in Leber, Muskel und Herz. Nach 4 ccm Hexeton war der Glykogengehalt im Muskel und in der Leber herabgesetzt, das Herzglykogen wurde durch diese Dosis jedoch nicht angegriffen. In beiden Versuchen bestand kurz vor dem Tode eine erhebliche Hyperglykämie. Einen Blutzuckeranstieg verschiedenen Ausmaßes konnte Tobitani[2] auch beim Kaninchen durch Camphergaben erzeugen. Er ist nach ihm zentral bedingt. Tannenbaum[3] beobachtete dagegen bei perkutaner Applikation von Campherspiritus und Campheröl sowie von campherähnlichen Substanzen beim Kaninchen eine Blutzuckersenkung von 10—30%. D'Allessandria[4] wies histochemisch beim Kaninchen nach Campher eine Glykogenverminderung im linken Ventrikel nach, während in der rechten Herzkammer, in den Vorhöfen und im Primitivbündel der Glykogengehalt unverändert blieb. Die tägliche Verabfolgung von Hexeton 6 Tage lang führte in den Versuchen von Lasch und Triger[5] bei Ratten im Mittel zu keiner Veränderung des Gesamtkohlehydratwertes im Herzen und in der Leber. Der Grundumsatz des Menschen steigt nach Schoen und Kaubisch[6] nach 0,01 g Hexeton intravenös bis zu 17%, nach 0,1 g Cardiazol und nach 250 mg Coramin intravenös vorübergehend um etwa 14% an. Beim Kaninchen beobachtete

[1] Haendel u. Munilla: Biochem. Z. **212**, 35 (1929). — [2] Tobitani: Arb. med. Fak. Okayama **6**, 178 (1939), ref. Kongreß z. Bl. inn. Med. **102**, 617 (1940). — [3] Tannenbaum: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **163**, 505 (1931). — [4] d'Allessandria: Fol. med. Napoli **18**, 1599 (1932). [5] Lasch u. Triger: Z. exper. Med. **88**, 588 (1933). — [6] Schoen u. Kaubisch: Arch. klin. Med. **150**, 251 (1926).

Bömer[7] einen nicht unbedeutenden Anstieg des Blutzuckers und der Blutmilchsäure nach Cardiazol. Weigand[8] fand beim Meerschweinchen nach oraler und subcutaner Cardiazolverabfolgung keinen Einfluß auf das Glykogenspeicherungsvermögen der Leber.

Die Kreislaufwirkung des Camphers ist bedingt durch eine Erregung der vasomotorischen Zentren. Daneben vermag er die Reizerzeugung am Herzen zu steigern[9]. Auch das Cardiazol und das Coramin greifen am Vasomotorenzentrum an. Eine periphere Gefäßwirkung besitzen sie dagegen nicht. Die Beeinflussung des Vasomotorenzentrums äußert sich in einem Anstieg des Herzminutenvolumens[10].

Eigene Untersuchungen.

Die Untersuchungen wurden zum Teil gemeinsam mit Themann[11] durchgeführt. Es wurde der Einfluß des Camphers, des dem Campher isomeren Hexetons sowie des Cardiazols und des Coramins auf den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens geprüft, also der Kreislaufmittel, die man als Angehörige der Camphergruppe zu bezeichnen pflegt. Von den beiden letztgenannten Präparaten ist das Coramin dem Campher pharmakologisch näher verwandt als das Cardiazol, dem für den Campher charakteristische Eigenschaften fehlen[12]. Da aber die Wirkung des Cardiazols in den üblichen Dosen auf den Kreislauf und sein Angriffspunkt der Campherwirkung entsprechen, wird es klinisch zur Camphergruppe gerechnet.

Alle genannten Mittel wurden subcutan verabfolgt. Die gewählte Dosis ist jeweils bei den Einzelversuchen vermerkt. Als Versuchstier wurde wiederum das Kaninchen benutzt. Die Ausführung der Untersuchungen und das methodische Vorgehen entsprechen dem früher geübten Verfahren[13, 14, 15]. Die Abkürzungen in den Tabellen sind die gleichen wie in den früheren Arbeiten. Es bedeutet GKH Gesamtkohlehydrate, Zw.KH Zwischenkohlehydrate und ber.KH-Bestand berechneter Kohlehydratbestand, worunter Gesamtkohlehydrate + auf den äquivalenten Traubenzuckerwert umgerechnete Milchsäure zu verstehen sind.

Ergebnisse.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen gehen aus den folgenden Tabellen hervor. Zum Vergleich sind ihnen wiederum die Mittelwerte der Normaltiere vorangestellt (Tabelle 1).

---

[7] Bömer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **149**, 247 (1930). — [8] Weigand: Z. exper. Med. **103**, 775 (1938). — [9] Gottlieb: Handb. exper. Pharmak. von A. Heffter, I., bei Jul. Springer, Berlin 1923. — [10] Hildebrandt: Ebenda, Ergänzungswerk, V., von W. Heubner u. J. Schüller (1937). — [11] Themann: Inaug.-Dissertation, Breslau 1938. — [12] Hildebrandt: a. a. O. — [13] Liebig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 465 (1940). — [14] Liebig: Ebenda **195**, 617 (1940). — [15] Liebig: Ebenda **196**, 137 (1940).

Tabelle 1. Mittelwerte der Normaltiere.

Tierzahl	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trockengewicht g%	Blutzucker g%
16	Herz	0,387	1,506	1,125	0,199	1,605	20,7	0,139
	Muskel	0,344	1,538	1,211	0,220	1,648	21,3	
	Leber	5,095	6,808	1,713	0,089	6,852	27,9	

Tabelle 2. Campher.

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trocken-gewicht g%	Blutzucker g%	Versuchsanordnung
1	227	Herz	0,363	1,286	0,923	0,169	1,370	27,5	9^{55}h 0,111	10^{00}h 0,25 ccm Ol.
		Muskel	0,401	1,559	1,158	0,201	1,659	24,5	10^{25}h 0,138	camph. 10% subcutan,
		Leber	2,245	3,940	1,695	0,112	3,996	30,0	11^{25}h 0,134	11^{30}h nach 90 Min. †
2	228	Herz	0,165	1,178	1,013	0,294	1,325	18,6	8^{05}h 0,110	8^{10}h 0,35 ccm Ol.
		Muskel	0,187	1,295	1,108	0,128	1,359	20,6	9^{05}h 0,127	camph. 10% subcutan,
		Leber	1,665	3,685	2,020	0,065	3,717	26,0	10^{05}h 0,138	10^{10}h nach 120 Min. †
3	233	Herz	0,360	1,629	1,269	0,132	1,695	25,1	8^{40}h 0,110	8^{45}h 500 mg/kg Ol.
		Muskel	0,125	1,235	1,110	0,138	1,304	21,9	9^{30}h 0,148	camph. forte subcutan,
		Leber	3,345	3,524	0,179	0,112	3,580	21,6	10^{30}h 0,150	12^{05}h nach 200 Min. †
									11^{30}h 0,180	
4	234	Herz	0,559	1,324	0,765	0,152	1,400	26,7	8^{05}h 0,115	8^{10}h 500 mg/kg Ol.
		Muskel	0,368	1,227	0,859	0,155	1,304	20,5	9^{45}h 0,149	camph. forte subcutan,
		Leber	2,655	3,525	0,870	0,112	3,581	29,6	10^{45}h 0,157	11^{15}h nach 185 Min. †
Mittelwerte:		Herz	0,362	1,354	0,992	0,187	1,447	24,5		
		Muskel	0,270	1,329	1,059	0,155	1,406	21,9		
		Leber	2,477	3,668	1,191	0,100	3,718	26,8		

In den beiden ersten Versuchen (Tabelle 2) wurde 10% Ol. camphoratum in kleinen Dosen, in den beiden letzten Ol. camphoratum forte in größeren Dosen injiziert, die 50% der Krampfdosis betrugen. Die geringen Campherdosen wurden ohne Zwischenfall gut vertragen, nach Ol. camphoratum forte stellte sich bei beiden Tieren vorübergehend Herzjagen ein. Mit Rücksicht auf die langsame Resorption des Campheröles wurden die Tiere erst verhältnismäßig lange Zeit nach der Einspritzung getötet. Auffallend sind die großen Unterschiede im Glykogengehalt des Herzens und des Skeletmuskels bei den einzelnen Tieren, die erheblich größere Spannen aufweisen als bei den Normaltieren. Bei den Tieren, denen geringe Mengen von Campheröl einverleibt wurden, ist das Herz glykogen- und kohlehydratreicher als der Skeletmuskel. Bei den Tieren, die große Dosen Campheröl erhielten, finden wir das umgekehrte Verhalten. Im Mittel entspricht der Glykogengehalt des Herzens der Norm, während der des Skeletmuskels erheblich unter dem Normalwert bleibt. Der berechnete Kohlehydratgehalt ist im Herz- wie im Skeletmuskel, im letzteren etwas mehr, erheblich vermindert. Im Gegensatz zu den entsprechenden Zahlen im Herzen und im Skeletmuskel zeigen die Leberglykogenwerte bei den einzelnen Tieren eine gute Übereinstimmung. Der berechnete Kohlehydratbestand der Leber ist den Kontrolltieren gegenüber im Durchschnitt fast um die Hälfte geschwunden, die Einzelwerte sind dagegen im Vergleich zur Normalserie auffallend konstant. Der mittlere Wassergehalt des Herzens ist deutlich geringer als bei den Kontrolltieren. Der Blutzucker ist in allen Versuchen erhöht. Das Ausmaß des Blutzuckeranstiegs ist bei den einzelnen Kaninchen verschieden, im allgemeinen aber nicht sehr groß.

Da die großen Schwankungen der Glykogen- und Kohlehydratwerte mit der schweren Resorbierbarkeit des Campheröles in Zusammenhang gebracht wurden, wurden die Versuche mit dem leichter resorbierbaren und dem Campher isomeren Hexeton wiederholt (Tabelle 3). In den beiden ersten Versuchen wurde das Hexeton in geringer Dosis subcutan gespritzt, in den beiden letzten Versuchen wurden die Hälfte bzw. $^4/_5$ der Krampfdosis gegeben. Letztere beträgt nach Hildebrandt und Mügge[16] für Ol. camphoratum bei subcutaner Gabe etwa 1000 mg/kg und für das Hexeton 120 mg/kg.

Die beiden Tiere, denen das Hexeton in geringer Dosis gespritzt wurde, wurden nach 105 und 110 Minuten getötet, die beiden anderen, die die größere Dosis erhielten, zum Ausgleich schon nach 60 und 65 Minuten. Bei den Hexetonversuchen fehlen die großen Schwankungen der absoluten Werte, die bei den Campherversuchen zu beobachten waren. Auch bestehen keine Unterschiede im Verhalten des Glykogens und des berechneten Kohlehydratbestandes im Herz- und Skeletmuskel zwischen den Versuchen

[16] Hildebrandt u. Mügge: Schmerz-Narkose-Anaesthesie **9**, 95 (1936).

mit geringen und größeren Hexetondosen. Im Mittel sind die Ergebnisse in der Hauptsache die gleichen, d. h. das Herzglykogen wird durch das Hexeton ebensowenig angegriffen wie durch den Campher, während das Skeletmuskelglykogen eine Verminderung aufweist, die jedoch geringer ist als bei den Campherversuchen. Auch der berechnete Kohlehydratbestand liegt wie beim Campher im Herz- wie im Skeletmuskel erheblich unter der Norm, nur mit dem Unterschied, daß der Schwund der Skeletmuskelkohlehydrate wesentlich größer ist als der der Herzkohlehydrate. Es fehlt dagegen der beim Campher zu beobachtende Verlust an Leberkohlehydraten, und auch der mittlere Glykogenreichtum der Leber ist größer als bei den Campherversuchen. Ebenso ist der Wassergehalt des Herzens größer als bei letzteren. Der Blutzucker steigt nur bei zwei Tieren an. Bei einem fehlt jede Blutzuckererhöhung, bei dem vierten hält sie sich innerhalb der normalen Schwankungsbreite.

Tabelle 3. Hexeton.

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trocken-gewicht g%	Blutzucker g%	Versuchsanordnung
1	207	Herz	0,342	1,294	0,952	0,158	1,373	19,1	10^{40} h 0,115	10^{45} h 10 mg Hexeton
		Muskel	0,242	1,076	0,834	0,122	1,137	19,8	11^{10} h 0,112	subcutan, 12^{35} h nach
		Leber	6,110	7,210	1,100	0,080	7,250	27,3	12^{10} h 0,107	110 Min. †
2	208	Herz	0,395	1,407	1,012	0,112	1,463	23,2	10^{30} h 0,130	10^{35} h 20 mg Hexeton
		Muskel	0,392	1,418	1,026	0,127	1,481	22,5	11^{00} h 0,. 74	subcutan, 12^{20} h nach
		Leber	5,510	6,895	1,385	0,094	6,942	28,2	12^{00} h 0,156	105 Min. †
3	217	Herz	0,407	1,491	1,084	0,161	1,571	20,4	9^{30} h 0,132	9^{55} h 60 mg/kg Hexeton
		Muskel	0,244	1,375	1,131	0,139	1,444	21,3	10^{20} h 0,133	subcutan, 10^{55} h nach
		Leber	0,885	2,855	1,970	0,042	2,876	27,4	10^{60} h 0,184	60 Min. †
4	220	Herz	0,458	1,552	1,094	0,160	1,632	23,2	9^{15} h 0,109	9^{20} h 96 mg/kg Hexeton
		Muskel	0,358	1,228	0,870	0,109	1,282	23,1	9^{45} h 0,087	subcutan, 10^{25} h nach
		Leber	3,645	8,685	5,040	0,054	8,712	27,9	10^{15} h 0,129	65 Min. †
Mittelwerte:		Herz	0,400	1,436	1,035	0,148	1,510	21,5		
		Muskel	0,309	1,274	0,965	0,124	1,336	21,7		
		Leber	4,037	6,411	2,374	0,068	6,445	27,7		

Die Tiere der folgenden Versuchsserie erhielten Cardiazol subcutan (Tabelle 4). Bei den beiden ersten Versuchen wurde den beiden gleich schweren Kaninchen je 0,1 g Cardiazol injiziert, bei den übrigen wurden je 26 mg/kg verabfolgt, was $^3/_4$ der Krampfdosis entspricht[17]. Sowohl bei den Tieren, denen 0,1 g Cardiazol einverleibt wurde, wie bei Kaninchen Nr. 129 stellte sich innerhalb der ersten halben Stunde nach der Einspritzung ein kurzdauernder Krampf ein.

Die beiden ersten Tiere dieser Versuchsreihe wurden nach 90—120 Minuten, die anderen nach 60—70 Minuten getötet. Der starke Schwund des Skeletmuskelglykogens bei den beiden ersten Versuchstieren ist zweifellos auf die größere Cardiazoldosis und vielleicht auch auf die längere Einwirkungszeit des Mittels zurückzuführen. Inwieweit das kurzdauernde Krampfen, das sich bei dem einen Tier 90 und bei dem anderen 75 Minuten vor dem Tode einstellte, für den Abbau des Skeletmuskelglykogens zu beschuldigen ist, ist deswegen schwer zu beurteilen, weil der Verlust an Skeletmuskelglykogen bei dem ebenfalls krampfenden Kaninchen Nr. 129 dem des nicht-krampfenden Kaninchens Nr. 130 völlig entspricht. Im übrigen stimmen alle Werte bei sämtlichen Versuchstieren grundsätzlich gut überein. Eine Ausnahme macht nur Kaninchen Nr. 221. Mit dieser Ausnahme ist bei allen Versuchen eine beträchtliche Abnahme des Skeletmuskelglykogens festzustellen, während das Herzmuskelglykogen in der Mehrzahl der Versuche angereichert ist. Infolgedessen liegt der mittlere Glykogengehalt im Herzen über der Norm, während der des Skeletmuskels ganz bedeutend vermindert ist. Auch der berechnete Kohlehydratbestand ist bei allen Versuchen im Herzen, zum Teil sogar erheblich, größer als im Skeletmuskel. Im Durchschnitt sind Gesamtkohlehydrate, Zwischenkohlehydrate und berechneter Kohlehydratbestand im Herzen wie im Muskel stark abgebaut, jedoch im Skeletmuskel in weit größerem Ausmaß. Das Leberglykogen weist bei den einzelnen Tieren sehr schwankende Werte auf und ist im Mittel gegenüber den Kontrolltieren erheblich vermindert. Der berechnete Kohlehydratgehalt der Leber entspricht im einzelnen wie im Durchschnitt der Normalserie. Die Blutzuckerkurve zeigt bei den einzelnen Tieren ein recht unterschiedliches Verhalten. Bei dem ersten Versuchstier fällt der Blutzucker ab, bei den beiden folgenden hält sich der Anstieg in mäßigen Grenzen, und bei den beiden letzten ist eine sehr erhebliche Hyperglykämie vorhanden.

In dem folgenden einmaligen Versuch wurde der Einfluß der gleichzeitigen intravenösen Traubenzuckergabe auf die Cardiazolwirkung geprüft (Tabelle 5). Das Tier erhielt wie die beiden ersten Versuchstiere der vorhergehenden Serie 0,1 g Cardiazol subcutan und gleichzeitig 10 ccm einer 25%igen Traubenzuckerlösung.

[17] Hildebrandt u. Mügge: a. a. O.

Tabelle 4. Cardiazol.

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trockengewicht g%	Blutzucker g%	Versuchsanordnung
1	206	Herz	0,583	1,403	0,820	0,144	1,475	18,7	10^{45}h 0,127	10^{50}h 0,1 g Cardiazol subcutan, 12^{50}h nach 120 Min. †
		Muskel	0,137	1,088	0,951	0,261	1,218	16,3	11^{15}h 0,103	
		Leber	2,890	4,490	1,600	0,129	4,554	27,2	12^{15}h 0,069	
2	212	Herz	0,290	1,232	0,942	0,332	1,398	21,0	9^{15}h 0,120	9^{20}h 0,1 g Cardiazol subcutan, 10^{50}h nach 90 Min. †
		Muskel	0,042	1,072	1,030	0,216	1,180	21,5	9^{45}h 0,175	
		Leber	1,775	3,685	1,910	0,109	3,739	27,3	10^{15}h 0,160	
3	221	Herz	0,382	1,652	1,270	0,153	1,728	21,6	9^{25}h 0,125	9^{30}h 26 mg/kg Cardiazol subcutan, 10^{30}h nach 60 Min. †
		Muskel	0,352	1,508	1,156	0,097	1,556	26,0	9^{55}h 0,148	
		Leber	1,140	10,600	9,460	0,080	10,640	29,7	10^{25}h 0,178	
4	129	Herz	0,440	1,221	0,781	0,127	1,284	22,0	12^{35}h 0,106	12^{40}h 26 mg/kg Cardiazol subcutan, 13^{50}h nach 70 Min. †
		Muskel	0,222	1,138	0,916	0,153	1,214	23,0	13^{05}h 0,335	
		Leber	6,455	6,765	0,310	0,102	6,816	28,6	13^{45}h 0,301	
5	130	Herz	0,475	1,429	0,954	0,155	1,506	20,5	12^{35}h 0,115	12^{40}h 26 mg/kg Cardiazol subcutan, 13^{40}h nach 60 Min. †
		Muskel	0,213	1,144	0,931	0,142	1,215	22,8	13^{05}h 0,290	
		Leber	6,100	6,960	0,860	0,098	7,009	28,0	13^{35}h 0,311	
Mittelwerte:		Herz	0,434	1,378	0,953	0,182	1,478	20,7		
		Muskel	0,193	1,190	0,997	0,174	1,277	21,9		
		Leber	3,672	6,500	2,828	0,104	6,552	28,2		

Tabelle 5. Cardiazol + Traubenzucker.

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trockengewicht g%	Blutzucker g%	Versuchsanordnung
1	214	Herz	0,461	1,600	1,139	0,066	1,633	22,8	11^{30}h 0,141	11^{35}h 0,1 g Cardiazol subcutan + 10 ccm 25% Traubenz.-Lösung i. v., 13h nach 85 Min. †
		Muskel	0,159	1,293	1,134	0,147	1,366	25,0	12^{00}h 0,310	
		Leber	3,360	4,310	0,950	0,500	4,560	28,7	13^{30}h 0,222	

Tabelle 6. Coramin.

Lfd. Nr.	Tier-Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zw.KH g%	Milchsäure g%	ber. KH-Bestand g%	Trocken-gewicht g%	Blutzucker g%	Versuchsanordnung
1	218	Herz	0,280	1,611	1,331	0,171	1,696	23,3	9^{55} h 0,125	10^{00} h 148 mg/kg Cora-
		Muskel	0,168	1,420	1,252	0,155	1,497	23,6	10^{25} h 0,125	min subcutan, 11^{00} h
		Leber	1,815	2,465	0,650	0,051	2,490	29,9	10^{55} h 0,143	nach 60 Min. †
2	219	Herz	0,237	1,364	1,127	0,357	1,542	21,5	9^{20} h 0,098	9^{25} h 236 mg/kg Cora-
		Muskel	0,096	1,267	1,171	0,213	1,373	23,1	9^{50} h 0,142	min subcutan, 10^{25} h
		Leber	0,185	2,465	2,280	0,205	2,567	27,8	10^{20} h 0,182	nach 60 Min. †
Mittelwerte:		Herz	0,258	1,487	1,229	0,264	1,619	22,4		
		Muskel	0,132	1,343	1,211	0,184	1,435	23,3		
		Leber	1,000	2,465	1,465	0,128	2,529	28,8		

Ein grundsätzlicher Unterschied gegenüber der Cardiazolreihe ist nicht festzustellen. Die Glykogenwerte entsprechen dem Durchschnitt der vorhergehenden Versuchsserie. Der berechnete Kohlehydratbestand im Herzen ist wie bei den nur mit Cardiazol behandelten Tieren wesentlich größer als im Skeletmuskel, entspricht aber im Gegensatz zu letzteren der Norm, während er im Skeletmuskel stark abgebaut ist. Ob dieser Unterschied auf den Traubenzucker zurückzuführen ist, soll auf Grund eines Versuches nicht entschieden werden. Die Möglichkeit ist zwar vorhanden. Eine solche Annahme würde aber den Erfahrungen bei den Strophanthinversuchen und bei den später zu veröffentlichenden Traubenzuckerversuchen widersprechen.

In einer letzten Versuchsreihe (Tabelle 6) wurde der Einfluß des Coramins auf den Kohlehydratstoffwechsel untersucht. Das erste Versuchstier erhielt $^1/_2$, das zweite $^4/_5$ der Krampfdosis, die nach Hildebrandt und Mügge[18] 296 mg/kg beträgt. Das Coramin wurde von beiden Tieren anstandslos vertragen.

Die Tiere wurden nach 60 Minuten getötet. Das Herzglykogen ist im Gegensatz zu den Cardiazolversuchen stark vermindert. Der Schwund des Skeletmuskelglykogens ist wesentlich ausgeprägter als im Durchschnitt der Cardiazolreihe, trotzdem das Coramin in keinem Falle Krampfzustände im Gefolge hatte. Der berechnete Kohlehydratbestand des Herzens entspricht im Mittel der Kontrollserie, während die Skeletmuskelkohlehydrate beträchtlich verringert sind. Das Resultat ent-

[18] Hildebrandt u. Mügge: a. a. O.

spricht insofern der Cardiazolwirkung, als auch das Coramin die Herzkohlehydrate weniger anzugreifen vermag als die Skeletmuskelkohlehydrate. Der Kohlehydratvorrat der Leber ist im Vergleich zur Cardiazolserie bedeutend vermindert. Das Trockengewicht in Herz- und Skeletmuskel ist im Gegensatz zu der vorigen Versuchsreihe erhöht. Im Verhalten des Blutzuckers bestehen keine Abweichungen. Soweit aus zwei Versuchen zu entnehmen ist, beeinflußt das Coramin von allen Mitteln der Camphergruppe den Abbau des Herzglykogens am meisten, greift aber den gesamten Kohlehydratbesitz des Herzens am wenigsten an.

Besprechung der Ergebnisse.

Im Gegensatz zu den beiden Hauptvertretern der Digitalisgruppe, der Digitalis und dem Strophanthin, zeigen die Mittel der Camphergruppe dem Kohlehydratstoffwechsel gegenüber ein im wesentlichen einheitliches Verhalten. Eine gewisse Ausnahmestellung nimmt nur das Coramin ein. Alle vier untersuchten Pharmaka beeinflussen übereinstimmend im Mittel das Glykogen und den berechneten Kohlehydratbestand im Herzen weniger als im Skeletmuskel. Beim Cardiazol ist sogar eine deutliche durchschnittliche Anreicherung des Herzglykogens festzustellen, das in den Campher- und Hexetonversuchen der Norm entspricht. Nur das Coramin bewirkt eine Erniedrigung der Herzglykogenwerte. Das Skeletmuskelglykogen ist in allen vier Versuchsreihen mehr oder weniger stark abgebaut, am meisten nach Cardiazol- und Coramininjektionen. Der Campher, das Hexeton und das Cardiazol vermindern im Durchschnitt den berechneten Kohlehydratbestand im Herzen und im Skeletmuskel, in letzterem aber eindeutig in größerem Ausmaß. Diese Erscheinung ist auch bei den Campherversuchen klar angedeutet. Den geringsten Einfluß auf den berechneten Kohlehydratbestand des Herzens hat das Coramin, während es die Skeletmuskelkohlehydrate ebenfalls herabsetzt. Der mittlere Glykogengehalt der Leber entspricht bei der Hexeton- und Cardiazolreihe fast, der durchschnittliche berechnete Kohlehydratbestand der Leber vollständig den Normalwerten, während der Campher und das Coramin einen erheblichen Glykogen- und Kohlehydratschwund in der Leber herbeiführen. Die Hyperglykämie, die bei allen Mitteln der Camphergruppe in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle zu beobachten ist, ist bei den einzelnen Tieren sehr verschieden stark ausgeprägt. Den höchsten Blutzuckeranstieg weisen zwei Cardiazoltiere auf. Der Wassergehalt des Herzmuskels wird im Durchschnitt am meisten durch Campher und Coramin, am wenigsten durch Cardiazol beeinflußt. Der Wassergehalt des Skeletmuskels wird nur durch das Coramin vermindert. Unsere Erfahrungen stimmen mit den Angaben von Haendel und Munilla (Versuch mit 4 ccm Hexeton) und von Lasch und Triger gut überein. Unsere Blutzuckerbefunde bestätigen die früheren Mitteilungen von Haendel und Munilla, von Tobitani und von Bömer. Auch die vorliegenden Versuche weisen ein-

deutig auf eine Sonderstellung des Herzens dem Skeletmuskel gegenüber hin. Auch gegenüber den Mitteln der Camphergruppe ist das Herz sichtlich bestrebt, seinen Kohlehydratbesitz und insbesondere seinen Glykogenvorrat zäh zu bewahren.

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Wir fassen die wesentlichsten Ergebnisse der vorstehenden Untersuchungen kurz zusammen:

1. Nach subcutanen Injektionen von Ol. camphoratum in kleinen Dosen ist der Skeletmuskel glykogen- und kohlehydratreicher als der Herzmuskel. Bei Verwendung größerer Dosen findet sich das umgekehrte Verhalten. Im Mittel ist der Glykogengehalt des Herzens normal, während das Skeletmuskelglykogen und der berechnete Kohlehydratbestand in Herz- und Skeletmuskel erheblich vermindert sind. Die bei den einzelnen Versuchen sehr unterschiedlichen Glykogenwerte sind wahrscheinlich durch das verschiedene Ausmaß der Campherölresorption bedingt.

2. Die subcutane Einverleibung von Hexeton läßt beim Kaninchen das Herzglykogen im Mittel unbeeinflußt, während das Skeletmuskelglykogen abgebaut wird. Der berechnete Kohlehydratbestand ist im Herzen wie im Skeletmuskel vermindert, jedoch im Herzen in weit geringerem Ausmaß.

3. Cardiazol, subcutan verabfolgt, erhöht den mittleren Glykogengehalt des Kaninchenherzens über die Norm, hat aber im Skeletmuskel einen größeren Glykogenschwund im Gefolge als das Hexeton. Der berechnete Kohlehydratbestand zeigt die gleiche Erniedrigung wie bei der Hexetonreihe, die Differenz zwischen Herz- und Skeletmuskelkohlehydraten ist aber im Durchschnitt größer als bei der letzteren.

4. Die gleichzeitige intravenöse Injektion von Traubenzucker ändert die Cardiazolwirkung nicht grundsätzlich. Ein Unterschied besteht nur insofern, als Herz- wie Skeletmuskel in dem einen durchgeführten Versuch kohlehydratreicher sind, und der Kohlehydratbesitz des Herzens dem Durchschnittswert der Kontrollserie entspricht.

5. Nach Coramin ist im Gegensatz zu allen anderen benutzten Mitteln der Camphergruppe auch das Herzglykogen stark abgebaut. Der mittlere Glykogengehalt des Skeletmuskels ist der niedrigste von allen Versuchsreihen. Dagegen werden die gesamten Herzkohlehydrate, wie der Durchschnittswert des berechneten Kohlehydratbestandes zeigt, vom Coramin von allen verwandten Mitteln am wenigsten angegriffen, während der berechnete Kohlehydratbestand des Skeletmuskels ebenfalls herabgesetzt ist.

6. Im Gegensatz zum Verhalten der Hauptvertreter der Digitalisgruppe, bei der die Reaktion des Kohlehydratstoffwechsels auf die Digitalis und das Strophanthin eine verschiedene ist, verhalten sich die geprüften Präparate der Camphergruppe in ihrer Einwirkung auf den Kohlehydrat-

stoffwechsel weitgehend übereinstimmend insofern, als sie die Herzkohlehydrate weniger beeinflussen als die Skeletmuskelkohlehydrate. Die Leberkohlehydrate weichen von dieser allgemeinen Haltung des Kohlehydrathaushaltes jedoch ab. Sie werden durch Hexeton und Cardiazol nicht angegriffen, durch Campheröl und Coramin aber abgebaut.

7. Auch diese Versuchsserie zeigt eine Sonderstellung des Herzens insofern, als es dem Herzen gelingt, seinen Kohlehydratbesitz in größerem Umfang zu bewahren als der Skeletmuskel.

In der letzten Mitteilung wurde der Versuch gemacht, eine Erklärung für das Verhalten des Kohlehydrathaushaltes unter Digitalis- und Strophanthinwirkung zu finden[19]. Es wurde die Hypothese aufgestellt, daß die Veränderungen, die im Kohlehydratstoffwechsel des Skeletmuskels und der Leber nachzuweisen waren, möglicherweise als der Ausdruck einer Mobilisation dieser Kohlehydrate im Interesse einer vermehrten Belieferung des Herzens mit Energiestoffen zu betrachten seien. Diese vermehrte Zufuhr von Energiematerial sei notwendig, weil das geschädigte Herz unter der Digitaliswirkung eine erhebliche Mehrarbeit zu leisten und infolgedessen auch einen erhöhten Bedarf an Betriebsstoffen habe. Es ist anzunehmen — und das schon wiederholt festgestellte Bestreben des Herzens, seinen Kohlehydratbestand unter den verschiedensten Bedingungen möglichst ungeschmälert zu bewahren, spricht für die Richtigkeit dieser Auffassung —, daß das Herz seinen Energiebedarf nur insoweit aus seinen eigenen Kohlehydratvorräten bestreitet, als sie durch Resynthese der bis zur Milchsäurestufe abgebauten eigenen Kohlehydrate wieder ergänzt werden können. Ist der Verbrauch größer, so werden die Kohlehydratdepots der Muskulatur und der Leber in Anspruch genommen. Erst dann, wenn der Energieverbrauch des Herzens eine gewisse Grenze überschreitet und die Zufuhr aus den Depots der Muskulatur und der Leber nicht ausreicht, ihn zu decken, greift das Herz auch seine eigenen Kohlehydrat*reserven* an. Die in der letzten Mitteilung aufgeworfene Frage, ob die Digitaliswirkung auf den Kreislauf vielleicht teilweise durch eine direkte oder indirekte Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels zu erklären sei, fände durch diese Hypothese eine Beantwortung in dem Sinne, daß die Beeinflussung der Herzdynamik durch die Digitalis verstärkt wird durch die Einwirkung der Digitalis auf den Kohlehydratstoffwechsel. Diese erfolgt über die nervöse Regulation des gesamten Kohlehydratstoffwechsels und führt je nach Bedarf zu einer Mobilisation der verschiedenen Kohlehydratdepots zugunsten des Herzens. Der Kohlehydratstoffwechsel des Herzens wird durch diesen Wirkungsmechanismus im Rahmen des gesamten Kohlehydratstoffwechsels gesteuert und reguliert. Es handelt sich also um eine indirekte Beeinflussung des Herzkohlehydratstoffwechsels durch die Digitalis. Die von uns auf Grund unserer Untersuchungsergebnisse

[19] Liebig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 137 (1940).

vertretene Auffassung, daß den Digitalisglykosiden eine Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel zuzuschreiben ist, findet in den Arbeiten von Freund und seinen Mitarbeitern[20] eine gute Stütze. Aus ihnen geht hervor, daß die anaeroben Spaltungsprozesse der Kohlehydrate in zerkleinertem und der Digestion bei 38° unterworfenem Organgewebe durch Zusatz von Digitalisstoffen eine grundlegende Veränderung erfahren, die auch dann in Erscheinung tritt, wenn dem Gewebsbrei Glykogen oder Glucose beigefügt wird. Die Wirkung besteht in einer besseren Verwertung der Glucose und des Glykogens und in einer Steigerung der Milchsäurebildung, soweit die Digitalisglykoside in „therapeutischer" Konzentration zugesetzt wurden. Sie wirken jedoch nicht nur auf das Herz, sondern in gleicher Weise auch auf alle anderen Organe ein. Bei dieser Versuchsanordnung kommt also den Mitteln der Digitalisgruppe auch ein direkter Einfluß auf den intermediären Kohlehydratstoffwechsel zu. Ob ein solcher auch in vivo vorliegt, ist vorläufig nicht bekannt, aber immerhin möglich. Es wäre also dann neben der auf Grund unserer Versuche anzunehmenden indirekten, über die übergeordnete nervöse Regulation erfolgenden Einwirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel möglicherweise noch eine direkte Beeinflussung der Herzkohlehydrate durch die Digitaliskörper vorhanden. Unsere Versuchsergebnisse lehren, daß die Verschiebungen im Kohlehydratstoffwechsel unter dem Einfluß der Digitalis, die wir als zweckentsprechend, ja geradezu als Vorbedingung für die Mehrarbeit des Herzens zu erklären versuchten, bereits beim herzgesunden Versuchstier einsetzen, während sich der therapeutische Herzeffekt der Digitalisierung, der sich in einer vermehrten Herzleistung äußert, bekanntlich nur am kranken Herzen erzielen läßt. Diese Ausführungen zur Ergänzung der Erörterungen in der letzten Mitteilung.

Welche Schlußfolgerungen sind nun aus den Resultaten der vorliegenden Arbeit zu ziehen? Der Campher und die synthetischen campherähnlichen Präparate greifen am Vasomotorenzentrum an. Nur vom Campher ist außerdem noch eine direkte Herzwirkung im Sinne einer Steigerung der Reizerzeugung bekannt. Eine direkte Beeinflussung der Herzkohlehydrate ist daher von vornherein auszuschließen. Dagegen ist eine indirekte insofern wahrscheinlich, als sich der Einfluß auf das Vasomotorenzentrum und damit auf das Gefäßsystem notwendigerweise in einer Vergrößerung des Herzminutenvolumens auswirken muß, die ihrerseits eine vermehrte Herzleistung und damit auch einen erhöhten Energiebedarf des Herzens erforderlich macht. Tatsächlich ist eine Steigerung des Minutenvolumens durch Coramin im Selbstversuch z. B. von Hoen und Neuthard[21] und durch Coramin und Cardiazol im Tierversuch an der Katze von Gollwitzer-Meier[22]

[20] Freund: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 73 (1932). Weitere Literatur siehe bei Lendle: Handb. d. exper. Pharmak., Erg.-Werk I, S. 206—208, von W. Heubner u. J. Schüller. Berlin, Jul. Springer, 1937. — [21] Hoehn u. Neuthard: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 302 (1937). — [22] Gollwitzer-Meier: Klin. Wschr. **1936**, S. 508.

nachgewiesen worden. Es ist anzunehmen, daß die Verminderung der Herzkohlehydrate, die in der Campher-, Hexeton- und Cardiazolreihe ersichtlich ist, der Ausdruck eines vermehrten Kohlehydratumsatzes im Herzen ist, der durch die erhöhte Arbeitsleistung des Herzens bedingt ist. Der Abbau der Skeletmuskelkohlehydrate wäre dann durch die Beanspruchung der Kohlehydratdepots der Muskulatur zu erklären, die den vermehrten Verbrauch des Herzens an Energiematerial zu ersetzen und den Kohlehydratbestand des Herzens aufzufüllen hätten. Kurz zusammengefaßt ergeben unsere Überlegungen, daß die Veränderungen im Kohlehydrathaushalt, die unsere Versuche aufgezeigt haben, als sekundäre Folge der durch die Mittel der Camphergruppe über die Beeinflussung des Vasomotorenzentrums und damit des Gefäßsystems ausgelösten Mehrarbeit des Herzens zu betrachten sind, und daß eine primäre Wirkung des Camphers und der synthetischen campherähnlichen Präparate auf den Kohlehydratstoffwechsel oder seine übergeordnete nervöse Regulation mit größter Wahrscheinlichkeit auszuschließen ist. Die Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels durch die Camphergruppe ist somit eine grundsätzlich andere als durch die Digitalisglykoside. Nur bei letzteren kann von einem therapeutischen Effekt auf den Kohlehydrathaushalt gesprochen werden.

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Beiträge zum Wirkungsmechanismus des Atropins.

Von

K. Lissák und **J. Martin.**

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. August 1940.)

Das Atropin, einer der wichtigsten Vertreter der parasympathischlähmenden Substanzen, hemmt bekanntlich schon in kleinen Mengen die muskarinähnliche Wirkung des Azetylcholins. Die Erregbarkeit der verschiedenen parasympathischen Nerven zeigt übrigens eine ziemlich veränderliche Resistenz gegen diese hemmende Wirkung des Atropins; z. B. können die aufs Herz ausgeübte negative Wirkung, weiters Pupillenverengung und Speichelsekretion mit kleinen Atropinmengen leicht gehemmt werden, während die gefäßerweiternde Wirkung der hinteren Wurzeln, der Chorda tympani und des Nervi erigentes, die Magen- und Darmbewegungen, sowie die Funduskontraktionen der Blase auch nach größeren Atropinmengen noch beinahe unverändert erhalten bleiben.

Bemerkenswert ist die Beobachtung, daß bei der mit Atropin hervorgerufenen gänzlichen Lähmung der parasympathischen Reaktionen in den Effektororganen noch Azetylcholin freigesetzt wird. Loewi und Navratil (1) konnten feststellen, daß am atropinisierten Froschherzen nach Vagusreizung Azetylcholin freigesetzt wird; dasselbe haben Rylant und Demoor (2) beim isolierten Säugetierherz, Gibbs und Szelöczey (3), weiters Henderson und Roepke (4) an der Speicheldrüse beobachtet. Die von Loewi und Navratil (1) mitgeteilten Versuchsergebnisse haben schon darauf hingewiesen, daß der Wirkungsmechanismus des Atropins wahrscheinlich nicht in der Lähmung der parasympathischen Nervenendigungen besteht, sondern daß das Atropin wie Kurare die Wirkung der freigesetzten Mittlersubstanz — des Azetylcholins — auf die Effektororgane hemmt.

In den letzten Jahren sind zahlreiche Beobachtungen gemacht, nach denen die sympathicomimetischen und parasympathicomimetischen Substanzen auch auf die denervierten Effektororgane wirken und daß die Empfindlichkeit der denervierten Organe gegen die erwähnten Substanzen in großem Maße gesteigert ist [Cannon (5)]. Diese Versuche klärten auch vollkommen die rätselhaften Erscheinungen der „paradoxen Pupillenreaktion" [Langendorff (6)] und des „Vulpian Phenomens" [Vulpian (7)]. Anderson (8) konnte für die parasympathische Innervation nachweisen,

daß bei der auf die Durchschneidung der kurzen ciliaren Nerven folgenden Degeneration die Empfindlichkeit des gelähmten M. sphincter pupillae gegen Pilocarpin gestiegen ist; das Physostigmin war an demselben Organ wirkungslos, die Atropinwirkung blieb aber erhalten. Shen und Cannon (9) konnten die gesteigerte Empfindlichkeit der denervierten Iris (nach Exstirpation des Ganglion ciliare) gegen Azetylcholin beobachten.

Die oben erwähnten Beobachtungen widerlegen die Auffassung, nach der die sympathico- und parasympathicomimetischen Substanzen ihre

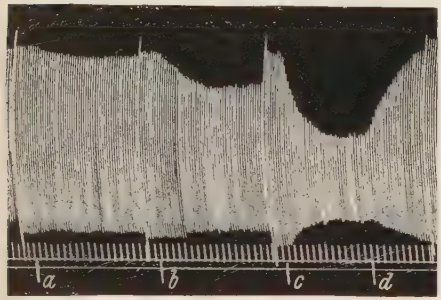


Abb. 1. Unteres Drittel vom Froschherzventrikel. a: 0,03 γ Azetylcholin (A.ch.); b: 0,3 γ A.ch.; c: 3 γ A.ch.; d: Atropin 1:100 000.

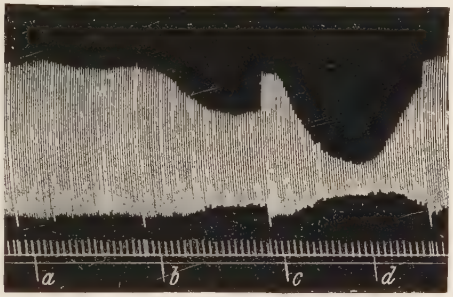


Abb. 2. Oberes Drittel desselben Herzens. a: 0,03 γ A.ch.; b: 0,3 γ A.ch.; c: 3 γ A.ch.; d: Atropin 1:100 000.

Wirkung auf die autonomen Nervenendigungen ausüben; man muß annehmen, daß diese Substanzen entweder direkt oder nach vorheriger Verbindung mit einer intermediären Substanz auf die Endorgane selbst wirken. Der Beweis für jene Feststellung, daß der Angriffspunkt der erwähnten Substanzen an den Nervenendigungen sei, wurde dadurch erbracht, daß deren Wirkungen im allgemeinen mit den nach elektrischer Reizung der entsprechenden Nerven der glatten Muskel oder Drüsenzellen auftretenden Reaktionen übereinstimmt.

Wir waren ebenfalls der Meinung, daß zur Azetylcholin- wie auch zur Atropinwirkung die parasympathische Innervation der Organe nicht nötig ist und daß die Reaktionsfähigkeit auf diese Substanzen bloß von der Qualität der Endorgane bestimmt wird. Zum Beweis dieser Annahme haben wir den Azetylcholin-Atropin-Antagonismus teils an Organen, die parasympathisch nicht innerviert sind, teils an vorher denervierten Effektoren untersucht.

Das untere Drittel des Froschherzenventrikels kann als ein von parasympathischer Innervation freies Endorgan angenommen werden, da es vermutlich keine Vagusfasern und Ganglienzellen enthält. Es wurden vom Vorhof, oberen und unteren Drittel des Ventrikels von Eskulentenherzen Segmente ausgeschnitten und in 3 ccm Ringerlösung suspendiert. Mit einem in den primären Stromkreis eingeschalteten Metronom wurden die Segmente pro Sekunde durch Öffnung des Induktionsstromes gereizt.

Die untersuchten Substanzen wurden der Suspensionsflüssigkeit zugegeben. Abb. 1 und 2 zeigen, daß in der Azetylcholinempfindlichkeit des oberen und unteren Drittels des Ventrikels kein wesentlicher Unterschied besteht; die negative Wirkung des Azetylcholins wurde bei beiden Segmenten durch Atropin aufgehoben. Aus der Abb. 3 und 4 geht hervor, daß die Azetylcholinempfindlichkeit des Vorhofsegments nur etwas größer ist, als die des mittleren Ventrikelsegments.

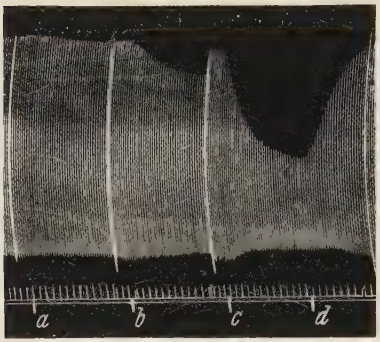


Abb. 3. Mittleres Drittel vom Froschherzventrikel. a: 0,3 γ A.ch.; b: 3 γ A.ch.; c: 30 γ A.ch.; d: Atropin 1:100 000.

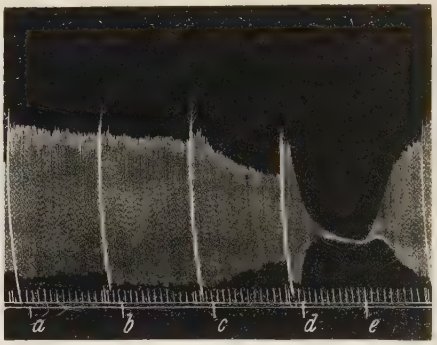


Abb. 4. Vorhof desselben Herzens. a: 0,03 γ A.ch.; b: 0,3 γ A.ch.; c: 3 γ A.ch.; d: 30 γ A.ch.; e: Atropin 1:100 000.

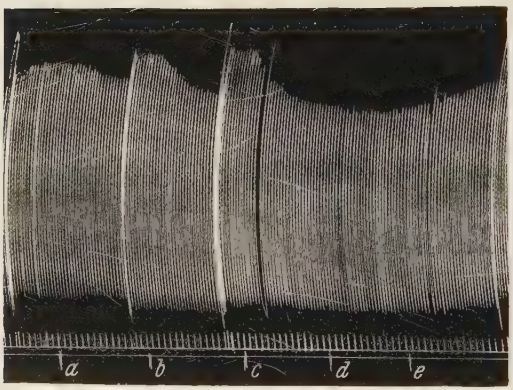


Abb. 5. Unteres Drittel vom Schildkrötenherzventrikel. a: 3 γ A.ch.; b: 30 γ A.ch.; c: 300 γ A.ch.; d: Atropin 1:100 000; e: Atropin 1:50 000.

Abb. 6. Vorhof desselben Schildkrötenherzens. a: 3 γ A.ch.; b: 30 γ A.ch.; c: Atropin 1:100 000.

In diesen Untersuchungen ist am vagusfreien unteren Drittel des Froschventrikels die Azetylcholin- und Atropinwirkung genau so aufgetreten wie bei den durch den Vagus innervierten Vorhof- und oberen Ventrikelsegmenten. Unsere Versuchsergebnisse stehen im Widerspruch mit den von Lánczos (10) mitgeteilten Beobachtungen, wo die auf die

ganze Kammer noch wirksamen Vagusstoff- und Azetylcholinlösungen auf den unteren $^2/_3$ des Ventrikels unwirksam waren, woraus auf einen nervösen Angriffspunkt dieser Stoffe gefolgert wird.

Das Schildkrötenherz ist ein noch geeigneteres Testorgan, da dessen Kammer überhaupt keine Vagusinnervation besitzt. Es wurden auch hier sowie aus den Froschherzen vom Vorhof und Ventrikel Segmente ausgeschnitten. Hier zeigte sich in der Azetylcholinempfindlichkeit der Vorhof- und Ventrikelsegmente schon größerer Unterschied (Abb. 5 und 6), aber die negative Wirkung konnte auch hier durch Atropin gehemmt werden.

Im weiteren haben wir Organe gewählt, die von ihren parasympathischen Innervationen gänzlich zu befreien sind. Die Auswahl ist wegen des anatomischen Sitzes und der Zerstreutheit der parasympathischen Ganglien sehr gering. Als geeignetes Organ erwies sich die Iris, bei der nach der Exstirpation des Ganglion ciliare die Okulomotoriusendigungen vollkommen degenerieren.

Das linksseitige Ganglion ciliare wurde bei Katzen nach der Methode von Shen und Cannon (9) unter sterilen Kautelen exstirpiert. In zwei Fällen wurde auch das Ganglion cervicale sup. entfernt, falls die Iris von Nervenelementen vollkommen befreit werden soll. 7—10 Tage nach der Operation haben wir in Dialanästhesie (0,8 ccm pro kg) und bei einem Tier ohne Anästhesie die verschiedenen Verdünnungen der untersuchten Substanzen in den Conjunctivasack eintropfen lassen und von den Veränderungen der Iris fortlaufend Lichtbildaufnahmen gemacht. Beide Augen wurden mit starker Lichtquelle beleuchtet, wodurch auf der normalen Seite eine reflektorische Pupillenverengerung aufgetreten ist, bis auf der denervierten linken Seite die Pupille lichtstarr war und unverändert in Mittellage blieb (Abb. 7, A). Wenn in jedes Auge 2 Tropfen 1%ige

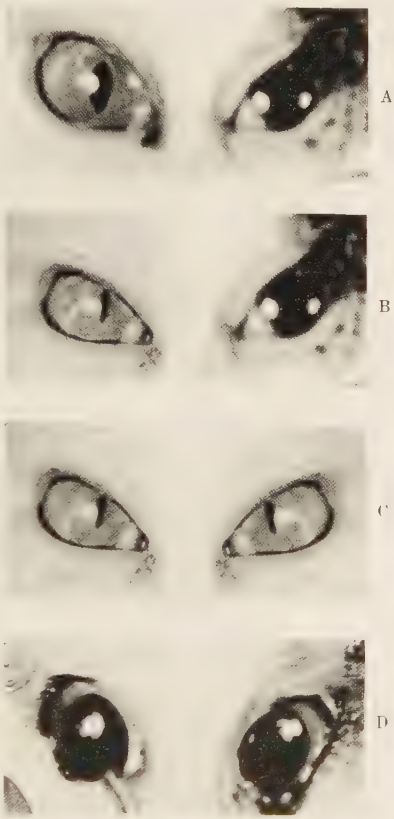


Abb. 7. Katze in Dialanästhesie. A: Ausgangsverhältnisse, rechtsseitige normale Pupille reflektorisch verengt, linksseitige denervierte Iris lichtstarr. B: 2 Tropfen 1%iger Physostigminlösung in beide Augen, Aufnahme 30 Minuten nachher. C: Nach 1%igem Physostigmin 2 Tropfen 1‰iger Azetylcholinlösung in beide Augen, Aufnahme nach 40 Minuten; D: 2 Tropfen 1%iger Atropinlösung beiderseits, Aufnahme nach 50 Minuten.

Physostigminlösung gegeben wird, ist auf der normalen Seite nach 30 Minuten schon starke Verengung aufgetreten, während auf der operierten Seite die Pupille unverändert blieb. Nach 2 Tropfen 1%iger Azetylcholinlösung ist auf der normalen Seite die Pupille unverändert geblieben, während auf der denervierten Seite starke Verengerung aufgetreten ist (Abb. 7 C). Wenn wir vor dem Azetylcholin in beide Augen Physostigmin gegeben haben, so ist nach 40 Minuten schon bei beiden Augen eine maximale Verengerung aufgetreten, auch bei Anwendung 1‰iger Azetylcholinlösungen (Abb. 7 D). Wenn zuletzt in beide Augen 2 Tropfen 1‰ige Atropinlösung gegeben wird, tritt auf der denervierten Seite schon nach 30, auf der normalen erst nach 50 Minuten maximale Erweiterung auf. Während der Atropinwirkung konnte bei beiden Augen weder mit Azetylcholin noch mit Pilokarpin Pupillenverengerung hervorgerufen werden.

Aus den an normaler und denervierter Iris vorgenommenen Versuchen können nachstehende Folgerungen gemacht werden.

1. Das Physostigmin ist an der denervierten Iris unwirksam. Dieselben Beobachtungen hat schon Anderson (11) gemacht, er konnte aber für diese Erscheinung keine Erklärung finden. Mit dem humoralen Mechanismus der Reizübertragung vom Okulomotorius auf die Iris, sowie dem Wirkungsmechanismus des Physostigmins ist diese Erscheinung heute schon hinreichend geklärt. Seit den von Engelhart (11) vorgenommenen Versuchen wissen wir außerdem, daß aus der Iris und dem Corpus ciliare das Azetylcholin nach der Degeneration vom Okulomotorius verschwindet.

2. Das Azetylcholin ist auch auf die denervierte Iris wirksam, die Azetylcholinempfindlichkeit letzterer nimmt sogar in großem Maße zu. Dieselben Beobachtungen haben auch Shen und Cannon (9) berichtet.

3. Das Atropin war auch an der vollkommen nervenfreien Iris wirksam, die nach Azetylcholin verengte Pupille wurde durch Atropin erweitert, bzw. die Azetylcholin- und Pilokarpinwirkung gehemmt. Die Empfindlichkeit der denervierten Iris hat auch gegen Atropin zugenommen. Diese Erscheinung unterstützt jene Auffassung, daß sich die nach der Denervation auftretende Zunahme der Empfindlichkeit nicht nur auf die organeigenen, sondern auf eine ganze Reihe der verschiedenen Substanzen bezieht und bei den verschiedensten denervierten Organen zustande kommt.

Bekanntlich werden die glatten Muskel der Katzennickhaut ausschließlich von aus dem Ganglion cervicale sup. stammenden postganglionären sympathischen Fasern innerviert, wodurch dieses Organ unter normalen Verhältnissen als ein rein adrenergischer Effektor betrachtet werden kann. Sowohl die innervierte, wie auch die postganglionär denervierte Nickhaut reagiert aber außer auf Adrenalin auch auf Azetylcholin und noch andere Substanzen mit einer Kontraktion. Zur Unterstützung unserer vorerwähnten Annahme haben wir den Azetylcholin-Atropin-Antagonismus

auch an der denervierten Nickhaut untersucht. Das Ganglion cervicale sup. von Katzen wurde unter sterilen Kautelen entfernt. Die Versuche haben wir 6—7 Tage später in Dialanästhesie durchgeführt. Die Nickhaut wurde beiderseits mittels Serafine und gleich belasteten und gleiche Vergrößerung gebenden Schreibern verbunden. Die Verdünnungen der untersuchten Substanzen wurde in die linksseitige Vena fomoralis injiziert. Abb. 8 und 9 zeigen einen dieser Versuche. *R* ist die Kurve der normalen, *L* die der denervierten Nickhaut. Aus Abb. 8 geht hervor, daß die Azetylcholinempfindlichkeit am denervierten Organ auch hier zugenommen hat.

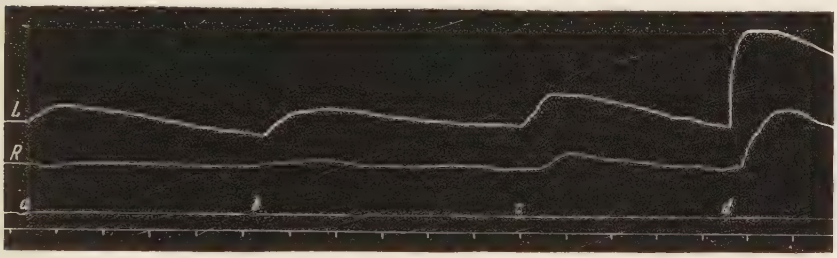


Abb. 8. Katze in Dialanästhesie. Linksseitiges Ganglion cervicale sup. 8 Tage vorher exstirpiert. *L* = Kurve der linksseitigen, *R* = die der rechtsseitigen Nickhaut. Signal zeigt Zeitintervalle von 60 Sekunden. a: 5 γ A.ch.; b: 10 γ A.ch.; c: 25 γ A.ch.; d: 50 γ A.ch.

Abb. 9. Dieselbe Katze, wie auf Abb. 8. a: 0,5 mg Atropin pro kg Körpergewicht; b: 25 γ A.ch.; c: 50 γ A.ch.

5 und 10 γ Azetylcholin hat nur bei der denervierten Nickhaut Kontraktion hervorgerufen, bis nach 25 und 50 γ Azetylcholin die Kontraktion beiderseits aufgetreten ist, aber auf der denervierten Seite war die Wirkung bedeutend größer. Nach 0,5 mg Atropin pro kg blieb auch 50 γ Azetylcholin unwirksam, während 10 γ Adrenalin auch nach Atropin beiderseits noch Kontraktionen hervorgerufen hat. Trotzdem die Nickhaut cholinergische Nervenendigungen nicht enthält und die adrenergischen Fasern degeneriert waren, blieb die Azetylcholinempfindlichkeit auch weiterhin erhalten und konnte durch Atropin gehemmt werden.

Die vorgenommenen Versuche unterstützen alle die von anderen [Henderson und Roepke (12)] mitgeteilte Annahme, daß das Azetylcholin und Atropin nicht auf die Nervenendigungen, sondern auf die Erfolgsorgane wirken. Dixon und Ransom (13) haben in ihrer zusammen-

fassenden Mitteilung die Versuchsergebnisse von Anderson (8) damit erklärt, daß nach der Degeneration der postganglionären Nervenendigungen in der myoneuralen Junktion eine rezeptive Substanz zurückbleiben soll, auf die das Muskarin, Pilokarpin und Atropin wirken. Diese hypothetische myoneurale Substanz mußten sie annehmen, um die auf die Erfolgsorgane ausgeübte selektive lähmende Wirkung der Substanzen erklären zu können. Nach Anderson (8) reagierte die denervierte und atropinisierte Iris auf Pilokarpin nicht, während sie sich bei Asphyxie kontrahiert. In unseren Versuchen hat sich auf Azetylcholin die Nickhaut der atropinisierten Katze nicht kontrahiert, dagegen blieb das Adrenalin auch weiterhin wirksam. Das Atropin behebt demnach nicht die Kontraktionsfähigkeit der Zellen, sondern es hemmt die Pilokarpin- und Azetylcholinwirkung. Auf dieselbe Weise können die von Hunt (14), Hunt und Renshaw (15) gemachten Beobachtungen erklärt werden, daß, während das Atropin die Wirkung des Azetyl-β-methylcholins nur teilweise hemmt, dieselbe Menge Atropin die Wirkung anderer Cholinderivate vollkommen neutralisiert.

Neben der auf die Nervenendigungen ausgeübten Wirkung dieser Substanzen ist ein viel zitierter Beweis das Verhalten der verschiedenen embryonalen Herzen. Es wurde z. B. festgestellt, daß das Hühnerembryoherz, bevor es mit dem Vagus in anatomische Verbindung tritt, nur auf die das Physiologische mehrfach überschreitenden Azetylcholinkonzentrationen reagiert [Cullis und Lucas (16), Markowitz (17)]. Armstrong (18) erhielt dieselben Ergebnisse bei Funduluseiern. Dementgegen fand Plattner (19) zwischen der Azetylcholinempfindlichkeit von innervierten und nicht innervierten Hühnerembryonenherzen keinen Unterschied, weiters konnte er in seinen Versuchen beobachten, daß das Azetylcholin auf das nervenfreie Flimmerepithel des Froschschlundes wirksam ist. Die an embryonalen Herzen vorgenommenen Versuche müssen wegen der methodischen Schwierigkeiten mit großer Kritik betrachtet werden. Die Beobachtung, daß das embryonale Organ nur in innerviertem Zustand auf Azetylcholin reagiert, bedeutet noch nicht, daß letzteres nur auf histologische Nervenendigungen wirkt, z. B. hat nach Baur (20) das Hühneramnion keine Innervation und reagiert auch auf verhältnismäßig großen (1 : 7000000) Azetylcholinverdünnungen. Wahrscheinlich werden die Effektororgane — unabhängig von ihrer Innervation — nur nach einem gewissen Entwicklungsstadium reaktionsfähig und empfindlich gegen diese Substanzen. Die auf die Zellen ausgeübte Wirkung dieser Substanzen müssen weitere Untersuchungen klären. Es steht allerdings fest, daß bei der Atropinwirkung Nervenendigungen im anatomischen Sinne keine Rolle spielen, weiters daß auch in atropinisierten Zellen noch jene physikalischen und chemischen Veränderungen auftreten, deren Folge die Freisetzung des Azetylcholins ist — wahrscheinlich aus den Nervenendigungen. Bei den atropinisierten Zellen ist entweder das Eindringen des Azetylcholins in die Zellen oder die

Reaktionsfähigkeit der Zellen gegen letztere Substanz gehemmt. Die bisherigen Versuchsergebnisse sprechen gegen letztere Möglichkeit.

Zusammenfassung.

Es konnte in der Azetylcholinempfindlichkeit des oberen und unteren Drittels des Froschherzventrikels (R. esculenta) kein Unterschied beobachtet werden. Die negative Wirkung des Azetylcholins wurde durch Atropin gehemmt. Die Azetylcholinempfindlichkeit des Vorhofsegments zeigt keinen bedeutenden Unterschied gegen die des mittleren Segmentes der Kammer. Die Azetylcholinempfindlichkeit des Vorhofes von Schildkrötenherzen ist ungefähr 10—100mal größer als die der Kammer; die lähmende Wirkung konnte auch hier bei beiden Herzsegmenten mit Atropin gehemmt werden.

Nach der Exstirpation des Ganglion ciliare an Katzen hat die Azetylcholinempfindlichkeit der denervierten Iris zugenommen. Auf den denervierten Pupillensphincter blieb Physostigmin unwirksam, die Azetylcholinwirkung wurde aber auch hier durch das Atropin gehemmt. Nach der Exstirpation des Ganglion cervicale sup. zeigte sich außerdem seitens der denervierten Katzennickhaut eine stark erhöhte Azetylcholinreaktion, welche mit Atropin gehemmt werden konnte; das Adrenalin dagegen kontrahierte auch die atropinisierte Nickhaut.

Diese Versuche unterstützen die schon bekannte Auffassung, daß die sympathico- und parasympathicomimetische Substanzen ihre Wirkungen nicht auf die autonomen Nervenendigungen, sondern unmittelbar auf die Endorgane entfalten. Das Atropin hemmt dementsprechend die Wirkung des Azetylcholins auf die Endorgane.

Literatur.

1) Loewi, O., u. E. Navratil: Pflügers Arch. **206**, 123 (1924). — 2) Rylant, P., u. J. Demoor: C. r. Soc. Biol. **96**, 204 (1927). — 3) Gibbs, O. S., u. J. Szeloczey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 61 (1932). — 4) Henderson, V. E., u. M. H. Roepke: Ebenda **172**, 314 (1933). — 5) Cannon, W. B.: Amer. J. med. Sci. **198**, 737 (1939). — 6) Langendorff, O.: Klin. Mbl. Augenhk. **38**, 823 (1900). — 7) Vulpian, A.: C. r. Acad. d. sc. **56**, 1009 (1863). — 8) Anderson, H. K.: J. Physiol. (Brit.) **33**, 414 (1905). — 9) Shen, S. E., u. W. B. Cannon: Chinese J. Physiol. **10**, 359 (1936). — 10) Lánczos, A.: Pflügers Arch. **225**, 710 (1930). — 11) Engelhart, E.: Ebenda **227**, 220 (1931). — 12) Henderson, V. E., u. M. H. Roepke: Physiol. Rev. (Am.) **17**, 373 (1937). — 13) Dixon, W. E., u. F. Ransom: Hefters Handb. **2**, 792 (1924). — 14) Hunt, R.; J. Pharmacol. exper. Therap. **6**, 477 (1915). — 15) Hunt, R., u. Renshaw: Ebenda **51**, 237 (1934). — 16) Cullis, W. C., u. C. L. T. Lucas: J. Physiol. (Brit.) **86**, 53 P. (1936). — 17) Markowitz, C.: Amer. J. Physiol. **97**, 271 (1931). — 18) Armstrong, P. B.: J. Physiol. (Brit.) **84**, 20 (1935). — 19) Plattner, F., u. Ch. L. Hou: Pflügers Arch. **228**, 281 (1931). 20) Baur, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **134**, 49 (1928).

Berichtigung

zu der Arbeit „Über Blutfarbstoffveränderungen nach Sulfanilamid-Derivaten“ von Hedwig von Restorff, dieses Archiv **196**, 10 (1940).

Auf S. 13 ist ein sinnentstellender Druckfehler stehengeblieben: Zeile 7 von unten muß es statt „der 8 Tage“ heißen: „der 8 Tiere“.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs.

Wirkung des Thyroxins auf die physikalische Wärmeregulation.

Von

G. Mansfeld und **Eszter Mészáros.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. August 1940.)

I. Einleitung.

In einer Reihe von Arbeiten konnte von Mansfeld und Mitarbeitern[1] gezeigt werden, daß die Wirkung des Thyroxins auf die Wärmebildung unabhängig vom Zentralnervensystem zustande kommt und daß die von der Schilddrüse abhängige gesteigerte Wärmebildung in den peripheren Organen auch nach Abtrennung vom Nervensystem ungestört weitergeht (vgl. Mansfeld[2], Mansfeld und v. Pap[3], sowie die folgende Mitteilung Mansfelds). Diese Regulatorfunktion der Schilddrüse für Wärmebildung konnte teils experimentell (P. Schenck[4]), teils durch histologische Prüfung der Schilddrüse (Cramer[5]) bestätigt werden und galt bis vor kurzem als einzige, mit welcher die Schilddrüse in den Wärmehaushalt eingreift (R. Thauer[6]).

Eine nähere Analyse der Thyroxinwirkung deckte uns aber kürzlich eine neue, und zwar zentralangreifende Wirkung des Thyroxins auf (Alwall, Mansfeld und Scheff-Pfeifer[7]), aus welcher es wahrscheinlich wurde, daß diesem Hormon außer seiner peripheren Wirkung für Wärmebildung noch eine zweite Rolle im Wärmehaushalt zufällt, indem es durch zentralnervöse Beeinflussung der Wärmeabgabe in die physikalische Wärmeregulation eingreift.

Ausgangspunkt dieser Untersuchungen war der von Glaubach und Pick[8] beschriebene Antagonismus zwischen der Temperaturwirkung des Novocains und dem Thyroxin am Meerschweinchen: Novocain bewirkt

[1] Mansfeld, G.: Klin. Wschr. **14**, 884 (1935); Mansfeld, G., Scheff-Pfeifer u. F. v. Tyukody: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 376 (1936); Alwall, Nils, G. Mansfeld u. S. Scheff-Pfeifer: Ebenda **187**, 486 (1937); Mansfeld, G., u. F. v. Tyukody: Ebenda **188**, 633 (1938); Mansfeld, G.: Ebenda **193**, 241 (1939). — [2] Mansfeld, G.: Über das Wesen der chemischen Wärmeregulation. Zbl. Physiol. **27**, 267 (1913); Arch. ges. Physiol. **161**, 430 (1915). — [3] Mansfeld, G., u. L. v. Pap: Pflügers Arch. **184**, 281 (1920). — [4] Schenk, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **92**, 1 (1922). — [5] Cramer, W.: Fever, Heat regulation climate etc. London, Longmans Green Co., 1928. — [6] Thauer, R.: Erg. Physiol. usw. **41**, 771 (1939). — [7] Alwall, Nils, G. Mansfeld u. Irene Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 486 (1937). — [8] Glaubach u. Pick: Ebenda **179**, 678 (1935).

nämlich an diesen Tieren einen Temperatursturz von 4—5° C für einige Stunden, welcher aber nicht zustande kommt, wenn die Tiere mit Thyroxin vorbehandelt werden. Wird aber diese antagonistische Thyroxinwirkung an Tieren mit durchtrenntem Rückenmark geprüft, so erweist sich das Thyroxin als unwirksam und die Thyroxinvorbehandlung vermag den Temperatursturz nicht zu hindern. Die genannten Autoren bezogen diese antagonistische Thyroxinwirkung auf seine Fähigkeit die Wärmebildung zu steigern, welche, wie sie irrtümlich glaubten, nach Durchschneidung des Rückenmarks verloren geht. Die inzwischen von uns durchgeführte Analyse der Thyroxinwirkung zeigte in Bestätigung der Befunde von Oberdisse und Roda[9], daß Rückenmarkdurchschneidung die Thyroxinwirkung auf die Wärmebildung nicht mindert, führte also zu dem Verdacht, daß die antagonistische, durch Rückenmarkdurchschneidung aufgehobene Thyroxinwirkung nicht auf die Wärmebildung, sondern auf die Wärmeabgabe gerichtet ist.

Erhärtet wurde dieser Verdacht einmal dadurch, daß wir zeigen konnten, daß Novocain in jenen Gaben, welche Temperatursturz bewirken, die Verbrennungen unbeeinflußt läßt, woraus gefolgert werden mußte, daß der Temperatursturz nach Novocain nur durch Steigerung der Wärmeabgabe erfolgen kann, weiterhin dadurch, daß die antagonistische Thyroxinwirkung durch stoffwechselunwirksame Ergotamindosen ebenso vereitelt werden konnte, wie durch Rückenmarkdurchtrennung, was dafür sprach, daß diese novocainantagonistische Wirkung mit der Stoffwechselwirkung des Thyroxins nichts zu tun hat und im Gegensatz zu dieser einen zentralen Angriffspunkt besitzt.

Diese Feststellungen führten zu dem Schluß, daß die „zentrale novocain-antagonistische Thyroxinwirkung eine bisher unbekannte Wirkung dieses Hormons auf die physikalische Wärmeregulation darstellt, wahrscheinlich bedingt durch eine Erregung von Vasomotorenzentren der Haut, deren Bahnen unterhalb D_5 aus dem Rückenmark treten und da sie durch Ergotamin lähmbar sind, offenbar dem sympathischen System angehören“[7].

Obschon die oben angeführten Tatsachen diese Schlußfolgerung als berechtigt erscheinen ließen, fehlte aus der Kette der Beweisführung ein wichtiges Glied und zwar der unmittelbare Nachweis dafür, daß Novocain durch eine Lähmung bzw. Erweiterung der Hautgefäße den Temperatursturz bewirkt und daß am thyroxinvorbehandelten Tier diese Gefäßerweiterung ausbleibt.

Dies zu prüfen war der Zweck folgender Untersuchungen.

II. Methodik.

Zur Feststellung einer Vasodilatation in der Haut hatten wir Haut- sowie Mastdarmtemperatur von Meerschweinchen auf thermoelektrischem Wege fortlaufend gemessen. Als Thermoelemente dienten solche aus

[9] Oberdisse u. Roda: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 253 (1935).

Eisenkonstantan. Die indifferenten Elektroden waren in siedendem Äther eingehängt, die Mastdarmelektrode war in einem sehr dünnwandigen Glasröhrchen eingeschlossen. Die Hauttemperatur wurde an der sorgfältig rasierten Rückenhaut über dem Kreuzbein, also einem sehr muskelarmen Körperteil, gemessen. Die Elektroden waren mit einer dünnen Isolierschicht von Schellack beschickt und lagen in einer — ihrer Dicke entsprechenden Aushöhlung eines 2 cm dicken Paraffinblocks, welcher die zu messende Hautfläche vollständig bedeckte und dieselbe von der Umgebung thermisch isolierte. Das Tier war auf einem kleinen Brett in hockender Stellung leicht gefesselt. Als Meßinstrument diente ein hochempfindliches Spiegelgalvanometer. Skalenentfernung 2 m. 0,01° C entsprach einem Ausschlag von 2 mm. Die Ablesungen geschahen je 2 Minuten. Jedem Versuch ging ein Vorversuch von 1—$1^1/_2$ Stunden voran, bis Haut- und Mastdarmtemperaturen sich als konstant erwiesen.

III. Versuche.

Der Temperaturunterschied zwischen Körperinnerem und Haut ist bei konstanter Zimmertemperatur ein gutes Maß für die Blutfülle der Haut. Jede Erweiterung der Hautgefäße führt zu einer Erwärmung der Haut und somit zu einer Abnahme der Temperaturdifferenz zwischen Haut und Mastdarm. Ist aber die Erweiterung der Hautgefäße eine so bedeutende, daß durch sie ein rascher Sturz der Körpertemperatur erfolgt, so fällt selbstverständlich mit abnehmender Bluttemperatur auch die Hauttemperatur, wodurch trotz Gefäßerweiterung ein Anstieg der Hauttemperatur verdeckt wird und die Vasodilatation nur zu Beginn des Versuchs in einem kurzen Anstieg der Hauttemperatur mit gleichzeitigem Sinken der Körpertemperatur also zu einer Abnahme der Temperaturdifferenz nur von kurzer Dauer führt.

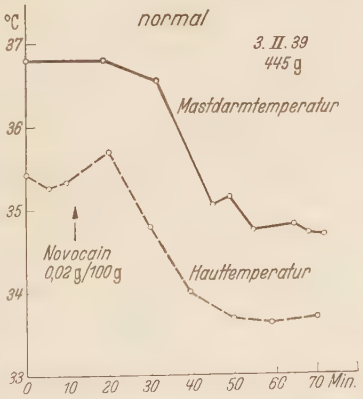


Abb. 1.

Dies ist der Fall, wenn wir die volle Novocaingabe von 0,02 g je 100 g Tier verabreichen, welche in kurzer Zeit zu einem Temperatursturz von mehreren Graden führt.

Einen derart ausgeführten Versuch zeigen wir in Abb. 1, in welchem zwar der Anstieg der Hauttemperatur bei gleichzeitigem Sturz der Innentemperatur sehr deutlich ist und zu einer Verminderung der Temperaturdifferenz zwischen Haut und Mastdarm auf weniger als die Hälfte (1,4 bis 0,5° C) führte, aber durch den raschen Abfall der Bluttemperatur schon nach etwa 10 Minuten schwindet und es zu einer, wahrscheinlich durch

die niedrige Bluttemperatur bedingten gegenregulatorischen Aufhebung der Gefäßerweiterung kommt.

Will man dies vermeiden und eine langanhaltende Gefäßerweiterung in der Haut durch Novocain erzielen, so gibt man Gaben, welche nur ein allmähliches Absinken der Körpertemperatur bewirken. Als Beispiele für derartig ausgeführte Versuche an normalen Tieren bringen wir in Abb. 2 die graphische Darstellung von drei wohlgelungenen Versuchen, aus welchen die Temperaturerhöhung der Haut bei stetig absinkender Körper-

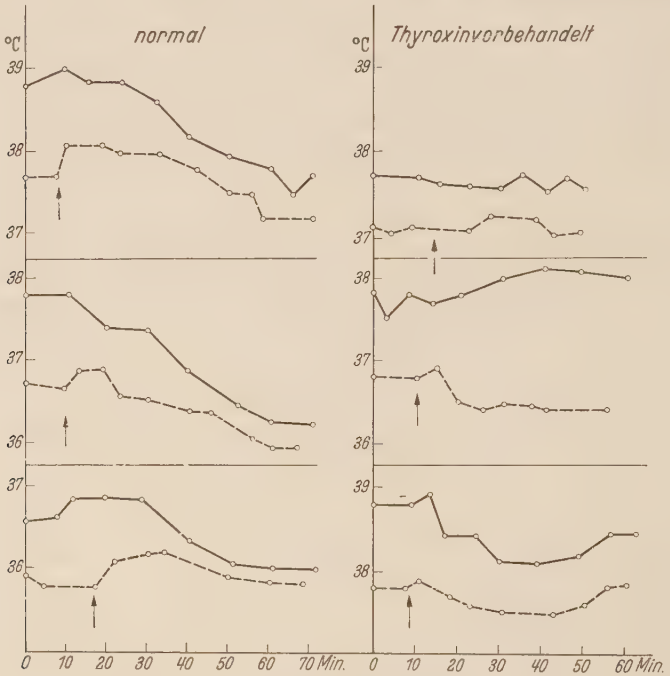


Abb. 2. Beim ↑ Novocain 0,01 g/100 g.
——— Mastdarmtemperatur,
— — — — Hauttemperatur.

temperatur nach Novocain zu ersehen ist und wohl keinen Zweifel über die Ursache des Novocaintemperatursturzes aufkommen läßt.

In Übereinstimmung mit unseren Stoffwechselversuchen, welche zeigten, daß temperatursturzbewirkende Novocaindosen die Wärmebildung unbeeinflußt lassen, sehen wir nun, daß die Abnahme der Körpertemperatur durch eine Steigerung der Wärmeabgabe durch die Haut bedingt ist.

Im folgenden prüften wir in ähnlicher Weise die Novocainwirkung an Tieren, welche mit Thyroxin vorbehandelt waren, um zu sehen, ob jene novocainantagonistische, durch Rückenmarkdurchtrennung und Ergotamin aufhebbare zentrale Thyroxinwirkung in der Tat dadurch bedingt ist, daß es die gesteigerte Wärmeabgabe verhindert.

Das Ergebnis solcher Versuche zeigen wir ebenfalls in Abb. 2.

Es ist deutlich zu sehen, daß hier das Novocain keine Erhöhung der Hauttemperatur bewirkt und daß dementsprechend kein Sinken der Körpertemperatur erfolgt. Würde der Temperatursturz durch die Stoffwechselwirkung des Thyroxins verhindert worden sein, wie es Glaubach und Pick[8] annahmen, so müßte die durch Novocain bedingte gesteigerte Wärmeabgabe unverändert in Erscheinung treten.

Sehr schön ließ sich dies zeigen durch Versuche, in welchen wir den Novocaintemperatursturz nicht mit Thyroxin, sondern mit Wärmezufuhr verhinderten und zwar so, daß wir — um die Hauttemperatur

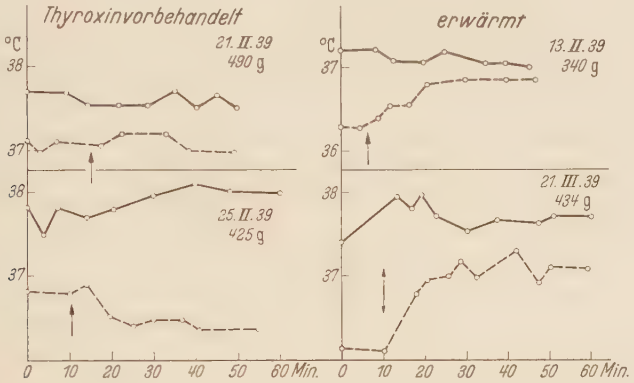


Abb. 3. Beim ▲ Novocain 0,01 g/100 g.
———— Mastdarmtemperatur,
— — — — Hauttemperatur.

nicht zu beeinflussen — eine kleine Glühlampe in die Bauchhöhle der Tiere einnähten und durch Ein- und Ausschalten des Stromes die Temperatur der Tiere während des Novocainversuchs konstant hielten.

In Abb. 3 sehen wir in Gegenüberstellung die Wirkung von Thyroxin und jene der Wärmezufuhr auf die Hauttemperatur nach Novocain. In beiden Versuchsreihen blieb die Körpertemperatur der Tiere unverändert. Während aber nach Thyroxinbehandlung diese Temperaturkonstanz dadurch bedingt ist, daß nach Novocain die gesteigerte Wärmeabgabe durch die Haut ausbleibt, sehen wir in den Versuchen, in welchen die Temperaturkonstanz durch Wärmezufuhr erreicht wurde, eine bedeutende Zunahme der Hauttemperatur nach der Verabreichung des Novocains.

Zusammenfassung.

Durch thermoelektrische Messungen der Temperatur von Haut und Körperinnerem wurde an Meerschweinchen geprüft, ob die durch Rückenmarkdurchtrennung (D_5 D_8) und Ergotamin aufhebbare — also zentral angreifende — Thyroxinwirkung, die den Novocaintemperatursturz ver-

hindert, in der Tat — wie schon frühere Stoffwechselversuche vermuten ließen — durch Drosselung der Wärmeabgabe zustande kommt. Die Versuche zeigten

1. daß der nach Novocain erfolgte Temperatursturz infolge gesteigerter Wärmeabgabe durch die Haut zustande kommt.

2. Eine Vorbehandlung der Tiere mit Thyroxin (3 · 0,3 mg) verhindert die novocainbedingte Gefäßerweiterung in der Haut und die Temperatur im Körperinnern bleibt unverändert.

3. Wird die Temperaturkonstanz im Körperinnern statt durch Thyroxin mittels Wärmezufuhr konstant erhalten, führt Novocain zu einer unverminderten Erwärmung der Haut.

Damit scheint uns der Nachweis geführt, daß Thyroxin fähig ist, durch Erregung von Vasomotorenzentren der Haut deren Bahnen unterhalb D_5 aus dem Rückenmark treten, einer gesteigerten Wärmeabgabe durch die Haut entgegenzuarbeiten und somit durch Beeinflussung auch der physikalischen Wärmeregulation in den Wärmehaushalt wirksam einzugreifen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs.

Humorale Übertragbarkeit der chemischen Wärmeregulation.

Von

G. Mansfeld.

(Eingegangen am 25. August 1940.)

Ein früh verstorbener italienischer Forscher A. Montuori[1] hatte im Jahre 1904 die Beobachtung gemacht, daß das Blutserum überwärmter und unterkühlter Hunde normalen Tieren injiziert an diesen eine Einschränkung bzw. Steigerung der Wärmebildung herbeiführt. Diese nur in italienischer Sprache erschienene Mitteilung blieb unbeachtet und war auch mir unbekannt, als ich[2] im Jahre 1912 die Frage einer experimentellen Prüfung unterwarf, ob nicht bei der sog. chemischen Wärmeregulation im Sinne Rubners im Blute kreisende Stoffe eine Rolle spielen, welche die Verbrennungen in den Zellen steigern. Veranlassung zu dieser Fragestellung war die merkwürdige Tatsache, daß der Wärmestich, eine einmalige Reizung nervöser Zentren von einer tagelang anhaltenden Steigerung der Wärmebildung gefolgt wird, die — nach der damals herrschenden Anschauung — durch gesteigerte Innervation in den peripheren Organen zustande kommt. Nach all dem was wir über die Reizbeantwortung nervöser Gebilde wissen, schien es wahrscheinlicher, daß die Reizung der Wärmezentren nur den Anstoß für die gesteigerte Wärmebildung abgibt, diese aber dann auch nach Ausschaltung des Nervensystems ungestört weitergeht, vielleicht durch Vermittlung von Hormonen. Um diese Hypothese zu prüfen, mußte untersucht werden, ob die gesteigerte Wärmebildung auch nach Ausschaltung des Nervensystems fortbesteht. 8 Jahre vor Beschreibung der Warburgschen Methode schien uns hierzu der einzig gangbare Weg, den Stoffverbrauch isolierter Organe normaler und fiebernder Tiere zu messen, wofür am geeignetsten das isoliert durchströmte Kaninchenherz war, welches nach den Untersuchungen von Locke und Rosenheim[3] eine gut meßbare Menge Zucker aus der Nährlösung verbraucht. Die von uns gefundenen Unterschiede zwischen dem Zuckerverbrauch von normalen und fiebernden Tieren entnommenen Herzen waren sehr deutliche: In 23 Normalversuchen verbrauchte das Herz je g und Stunde im Mittel 2.2 mg Dextrose, während die Herzen von 16 stichfiebernden Kaninchen im

[1] Montuori, Adolfo: Ric. Biotermiche Napoli 1904. — [2] Mansfeld, G.: Das Wesen der chem. Wärmeregulation. Zbl. Physiol. **27**, 267 (1913); Pflügers Arch. **161**, 430 (1915). — [3] Locke u. Rosenheim: J. Physiol. (Brit.) **36**, 205 (1907).

Mittel 3,8 mg Dextrose verbrauchten, was einen Mehrverbrauch von rund 70% bedeutete.

Die Wichtigkeit dieses Ergebnisses erblickten wir darin, daß die Erregung des Wärmezentrums in einem peripheren Organ auch nach Abtrennung vom Nervensystem einen erhöhten Stoffverbrauch unterhält, was dafür sprach, daß dieser Mehrverbrauch nicht die Folge gesteigerter Innervation, sondern einer durch den Wärmestich in Gang gesetzten Hormonproduktion ist.

Durch den Weltkrieg gehindert, konnten wir erst im Jahre 1919 die Arbeit wieder aufnehmen, um zu prüfen, ob auch bei der physiologischen Wärmeregulation hormonale Faktoren beteiligt sind (Mansfeld und v. Pap[4]). Diese ebenfalls noch an isolierten Kaninchenherzen ausgeführten Versuche gewährten einen weiteren Einblick in den Vorgang der chemischen Wärmeregulation. Das wesentlichste Ergebnis dieser Versuche war, daß nicht nur die isolierten Herzen von in der Kälte bzw. Wärme gehaltenen Tieren einen hohen bzw. niedrigen Zuckerverbrauch zeigten, sondern daß das Blutserum solcher Tiere die Eigenschaft besaß, den Zuckerverbrauch isolierter Herzen im Sinne der chemischen Wärmeregulation zu verändern: das Serum gekühlter Tiere steigerte, das Serum erwärmter Tiere verminderte den Zuckerverbrauch isolierter Herzen, wie dies aus Tabelle 1 ersichtlich ist.

Eine weitere Erkenntnis aus diesen Versuchen war, daß diese Eigenschaft der Blutsera von der Tätigkeit der Schilddrüse bedingt ist, denn Tiere ohne Schilddrüse lieferten trotz Erwärmung bzw. Abkühlung völlig unwirksame Blutsera.

Tabelle 1.

Zuckerverbrauch isolierter Kaninchenherzen je g und Std.	
ohne Serum	mit Serum
Gekühlte Tiere:	
1,51	0,69
2,28	0,94
3,60	0,41
2,80	1,22
2,92	0,97
Mittel: 2,62	0,84
Erwärmte und Sommertiere:	
0,85	—
1,00	—
0,80	2,57
0,27	2,82
0,58	3,56
0.80	3,46
Mittel: 0,71	3,10

Daß die Schilddrüse ein Beschleuniger der Verbrennungsvorgänge ist, wissen wir seit den Untersuchungen von E. Mendel[5], F. v. Müller[6] und A. Magnus-Levy[7]. Daß sie aber in den verwickelten Vorgang der Wärmeregulation eingreift und Stoffe an das Blut abgibt, welche sowohl gegen Unterkühlung wie gegen Überwärmung

[4] Mansfeld, G., u. L. v. Pap: Pflügers Arch. **184**, 281 (1920). — [5] Mendel, E.: Dtsch. med. Wschr. **1893**, S. 25. — [6] Müller, F. v.: Dtsch. Arch. klin. Med. **51**, 335 (1892). — [7] Magnus-Levy, A.: Berl. klin. Wschr. **1895**, S. 650.

Schutz leisten, ist erstmalig durch unsere eben erwähnten Untersuchungen gezeigt worden.

Eine Bestätigung unserer Versuche brachten zuerst die Versuche von Paul Schenk[8], der zeigen konnte, daß das Blut eines abgekühlten Kaninchens den O_2-Verbrauch eines schilddrüsenlosen Empfängertieres nur dann steigert, wenn im Einklang mit unseren Versuchen das Spendertier im Besitz seiner Schilddrüse war. Eine weitere Stütze erfuhren unsere Befunde durch die Untersuchung G. Coris[9] an einem kongenitalen Myxoedem, welche ebenfalls für die Rolle der Schilddrüse bei der Wärmeregulation sprach.

Im Einklang mit diesen experimentellen Befunden waren die histologischen Untersuchungen von L. Adler[10], W. Cramer[11] u. a., nach welchen bei tiefer Außentemperatur die Schilddrüsen das histologische Bild aktiver Schilddrüsen mit hohem Epithel und geringer Kolloidspeicherung zeigte, während warme Außentemperatur zu einer Ruhigstellung der Drüse führt. Auch der verschiedene Ausfall der Acetonitrilreaktion im Sommer und Winter (R. Hunt[12]), sowie in warmer und kalter Umgebung (Sundstroem[13]) deutete in gleiche Richtung, sowie auch die Untersuchungen L. Adlers[14] über die Weck- und Heizwirkung von Schilddrüsenauszügen an winterschlafenden Igeln.

In einem gewissen Widerspruch zu dieser Feststellung stand die Tatsache, daß nach Exstirpation der Schilddrüse die Ausfallserscheinungen bezüglich der Wärmeregulation keine sehr hochgradigen sind * und wie Hildebrandt[15] an weißen Ratten zeigen konnte, die Wärmebildung in großer Kälte auch an schilddrüsenlosen Tieren gesteigert wird. Dies führte zu der Anschauung, daß der Schilddrüse keinerlei Bedeutung für die Wärmeregulation zukommt — was aber, worauf Thauer[16] richtig hinweist, ganz und gar unberechtigt ist, da man aus dem Fehlen einer Störung nach Herausnahme eines Organs nie folgern dürfte, daß diesem im Gesamtverband des Organismus unter physiologischen Bedingungen keine Bedeutung zukommt. Daß nach Entfernung der Schilddrüse die gesamte Muskulatur vielleicht schon bei Temperaturgraden einspringen muß, welche in der Norm noch ohne Muskelzittern bewältigt werden, ist ebenso möglich, als daß im Freien bei großer Kälte schlafende Tiere den Wärmeverlust nicht durch Muskelzittern, sondern durch eine „hormonale" Steigerung der Wärmebildung kompensieren. Daß auch schilddrüsenlose Tiere in der Kälte die Wärmebildung steigern, ist wohl keine Veranlassung, die Regu-

[8] Schenk, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **92**, 1 (1922). — [9] Cori, G.: Z. exper. Med. **25**, 150 (1921). — [10] Adler, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **86**, 159 (1920). — [11] Cramer, W.: Fever, Heatregulation, climate etc. London, Longmans, Green and Co., 1928. — [12] Hunt, R.: Amer. J. Physiol. **63**, 257 (1923). — [13] Sundstroem, E. S.: Ebenda **60**, 434 (1922). — [14] Adler, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **87**, 406 (1920). — [15] Hildebrandt, F.: Ebenda **90**, 330 (1921). — [16] Thauer, R.: Erg. Physiol. usw. **41** (1939).

* Schrifttum siehe bei Thauer, R.: Erg. Physiol. usw. **41**, 766 (1939).

latorfunktion der Schilddrüse im Wärmehaushalt in Abrede zu stellen. Es darf auch nicht vergessen werden, daß wir fast nichts über ihre Notwendigkeit bei der Regulation gegen Überwärmung wissen, obschon unsere oben angeführten Versuche sehr für die Existenz jenes Vorganges sprechen, den man seit den Untersuchungen von Plaut und Wilbrand[17] als „zweite Wärmeregulation" bezeichnet und die in einer Einschränkung der Verbrennungen unter den Ruheumsatz sich äußert.

Ohne Rücksicht darauf, ob die physiologische Bedeutung der Schilddrüse für den Wärmehaushalt heute schon in vollem Umfang gewürdigt werden kann, schien es uns notwendig, die ganze hormonale Wärmeregulation einer erneuten Prüfung zu unterziehen und zwar in erster Linie deshalb, weil die Entdeckung des Thyroxins durch Kendall, sowie die Erkennung seiner Wirkungsart wichtige Einwände gegen unsere Übertragungsversuche sowie überhaupt gegen die Regulatorfunktion der Schilddrüse zeitigten. Wir wissen heute, daß das Thyroxin seine bekannte Wirkung auf die Verbrennungen nicht sofort, sondern erst nach einer Latenz von 24 Stunden entfaltet, was im Widerspruch mit jener Tatsache stand, daß das Kälteserum in unseren Versuchen sofort den Zuckerverbrauch der Herzen steigerte. Auch ist das regulatorische Eingreifen der Schilddrüse in den Wärmehaushalt schwer verständlich, wenn das von ihm produzierte Hormon erst nach 24 Stunden die Wärmebildung steigert. Auch aus unseren[21] kürzlich mitgeteilten Versuchen über Lokalisation der Thyroxinwirkung — nach welchen dieses Hormon nicht im Muskel, sondern in den vegetativen Organen den O_2-Verbrauch steigert — erwuchsen Bedenken, da, wie wir sahen, in unseren Versuchen die durch Abkühlung der Tiere entstandenen Blutwirkstoffe gerade in den Muskelzellen des Herzens den Stoffverbrauch steigerten.

Es frug sich weiterhin — nachdem seit der Entdeckung des Insulins die Bedingungen des Zuckerverbrauchs näher bekannt wurden —, ob es berechtigt ist, den veränderten Zuckerverbrauch isolierter Herzen als Ausdruck geänderter Wärmeproduktion anzusehen, sind doch auch ganz andere Vorgänge denkbar, die einen veränderten Zuckerschwund aus der Nährlösung bewirken könnten. Dies zu prüfen schien um so berechtigter, da wir heute durch die Warburgsche Methode in der Lage sind, statt den Zuckerverbrauch die Verbrennungen in den peripheren Organen zu bestimmen. Schließlich ergab sich die Notwendigkeit einer Wiederaufnahme der Untersuchungen aus dem Umstand, daß Thauer[18] sowie Popoff[19] eine vom Zentralnervensystem weitgehend unabhängige Regulation der Körperwärme aufdeckten und so schien es besonders

[17] Plaut, R., u. P. Wilbrand: Z. Biol. **74**, 191 (1922). — [18] Thauer, R.: Pflügers Arch. **236**, 102 (1935); **239**, 483 (1937). — [19] Popoff, N. F.: Ebenda **234**, 137 (1934).

wichtig, die hormonalen Faktoren der Wärmeregulation näher kennenzulernen.

Im Angesicht dieser Lage stellten wir uns die Aufgabe, die Frage erneut zu untersuchen, ob in der Tat bei der Regulation gegen Kälte und Wärme Stoffe im Blute auftreten, welche die Verbrennungen in den Organzellen beschleunigen bzw. hemmen und inwieweit bei der Entstehung solcher Stoffe die endokrinen Organe beteiligt sind.

II. Methodik.

Die von uns[20] empfohlene Abänderung der Warburgschen Methode zur Prüfung nicht oder wenig zerkleinerter Organe im wasserdampfgesättigten Gasraum ermöglichte es, die Oxydationsvorgänge im überlebenden Skeletmuskel manometrisch zu prüfen. Da, wie wir zeigen konnten symmetrische Muskel selbst mit einem Zeitintervall von 1–2 Tagen dem Körper entnommen, identische Werte des O_2-Verbrauchs liefern, war es uns möglich, mit der modifizierten Warburgschen Methode zu entscheiden, ob nach der Injektion von Blutsera, die von unterkühlten bzw. überwärmten Tieren stammen, die Verbrennungen im isolierten überlebenden Muskel, also nach seiner Abtrennung vom Nervensystem ansteigen bzw. herabfallen? Als Versuchstiere dienten Kaninchen. Zu jedem Versuch verwendeten wir einen Blutspender, an dem vor der Blutentnahme die Abkühlung bzw. die Überwärmung vorgenommen wurde. Beide Eingriffe erzielten das Einleiten einer intensiven Wärmeregulation. Die Abkühlung geschah durch Besprengen mit kaltem Wasser oder durch kurzes Eintauchen in kaltes Wasser und Ingangsetzen eines elektrischen Ventilators, bis die Körpertemperatur um 2–3° C fiel. Dann wurde das Tier abgetrocknet, der Ventilator abgestellt und wenn die Körpertemperatur um 0,5–1,0° C wieder anstieg, wurde dem Tier zur Serumbereitung Blut entnommen. Die Erwärmung der Tiere erfolgte in einem Wärmeschrank bei 31–33° C, in welchem die Tiere 3–4 Stunden verbrachten. Die Körpertemperatur stieg dabei um 1–2° C.

Die so erhaltenen Sera wurden in der Menge von je 5–10 ccm für jeden Versuch 2–3 Blutempfängern intravenös eingespritzt. Unmittelbar vor der Injektion wurden den Blutempfängern unter Asepsis der eine Gastrocnemius herausgeschnitten, eventuelle Blutung sorgfältig gestillt und die Wunde vernäht. Die entnommenen Gastrocnemien wurden sofort in sterilen Wägegläschen gewogen, in die ebenfalls sterilen Warburg-Gefäße eingehängt und ihr O_2-Verbrauch im 2-Stunden-Versuch bestimmt. Der zweite Gastrocnemius wurde 20–30 Minuten nach der Seruminjektion in genau gleicher Weise entnommen und verarbeitet.

[20] Mansfeld, G., u. I. Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 585 (1938).

Sämtliche manometrischen Bestimmungen des O_2-Verbrauchs wurden von der technischen Assistentin Frl. Maria Schnell ausgeführt.

III. Die Regulation gegen Kälte.

a) Die Wirkung des Blutserums gekühlter Tiere auf den O_2-Verbrauch von Muskel und Leber.

In der Einleitung wurde bereits auf den Widerspruch hingewiesen, der zwischen den Ergebnissen der früheren Versuche (Mansfeld und v. Pap[4], P. Schenk[8]) und der inzwischen bekannt gewordenen Wirkungsart des Thyroxins besteht. Während das Kälteserum sofort und in den Muskelzellen des Herzens wirksam war, wissen wir, daß das Thyroxin erst nach einer Latenz von 24 Stunden die Verbrennungen steigert und wie wir[21] zeigen konnten, nicht im Muskel, sondern in den vegetativen Organen (Parotis, Leber, Niere, Hoden).

Als erste Frage war also zu untersuchen, ob das Kälteserum sofort zu einer Steigerung des O_2-Verbrauchs führt und ob diese ähnlich wie durch Thyroxin in vegetativen Organen oder aber im Skeletmuskel erfolgt?

Zu diesem Zweck hatten wir vor und nach der Seruminjektion in dieser Versuchsreihe den Blutempfängern außer den Muskeln auch Leberstückchen entnommen und zwar in der Weise, wie wir es früher beschrieben haben[21].

Das Ergebnis dieser Versuche ist in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2. Wirkung von 5 ccm Blutserum gekühlter Tiere auf O_2-Verbrauch von Muskel und Leber der Blutempfänger.

Versuch Nr.	Datum 1938	Blutspender	Blutempfänger	cmm O_2-Verbrauch je g und Stunde: Muskel vor Seruminjektion	Muskel 30′ nach Seruminjektion	Muskel Differenz %	Leber vor Seruminjektion	Leber 30′ nach Seruminjektion	Leber Differenz %
1	11. XI.	A.	1	207	337	+ 62	631	617	— 2
2	14. XI.	B.	2	180	246	+ 36	559	545	— 3
3	25. XI.	C.	3	186	286	+ 54	—	—	
			4	213	224	+ 5	—	—	
4	30. XI.	D.	5	203	266	+ 31	607	549	— 9

Wir sehen zunächst, daß im isolierten Muskel, den wir 30 Minuten nach Verabreichung der Kältesera dem Körper entnahmen, eine sehr beträchtliche Steigerung der Verbrennungen stattfand, während das Serum die Verbrennungen in der Leberzelle unbeeinflußt ließ.

Sowohl die sofortige Wirksamkeit des Serums, sowie ihre Lokalisation sprach entschieden gegen die Annahme, daß die

[21] Mansfeld, G.: Lokalisation und Wirkungsart des Thyroxins im Tierkörper. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 231 (1939).

Beschleunigung der Verbrennungen durch Thyroxin herbeigeführt werde. Es mußte also geprüft werden, ob für das Entstehen wirksamer Kältesera die Schilddrüse überhaupt notwendig ist?

b) Unwirksamkeit des Kälteserums schilddrüsenloser Tiere.

Um dies zu prüfen, verwendeten wir als Blutspender schilddrüsenlose Tiere. Die nach Kälteeinwirkung gewonnenen Sera wurden normalen Blutempfängern injiziert und die Verbrennungen im Muskel geprüft. Das Ergebnis sehen wir in Tabelle 3.

Tabelle 3. Wirkung von 5 ccm Blutserum von gekühlten schilddrüsenlosen Tieren auf den O_2-Verbrauch des Muskels.

Versuch Nr.	Datum 1938	Blutspender (schilddrüsenlos)	Blutempfänger	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde vor Seruminjektion	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde 30′ nach Seruminjektion	Differenz %
5	28. XI.	E.	6	237	239	0
			7	263	262	0
			8	264	234	− 11
6	29. XI.	F.	9	221	234	+ 5
			10	242	207	− 10
			11	251	293	+ 16
7	9. XII.	G.	12	231	253	+ 13
			13	309	292	− 5
			14	234	239	+ 2

Das Kälteserum von drei schilddrüsenlosen Tieren erwies sich an 7 Empfängertieren als vollkommen unwirksam, während an 2 Tieren die geringe Steigerung um 13 bzw. 16% kaum die Fehlergrenze übersteigt.

Es kann also nicht daran gezweifelt werden, daß für die Entstehung wirksamer Kältesera die Tätigkeit der Schilddrüse notwendig ist.

Die weiteren Versuche sollen zeigen, inwiefern und in welcher Weise dabei das Thyroxin beteiligt ist?

c) Die Beteiligung des Thyroxins an der Wirksamkeit des Kälteserums.

Die Tatsachen, daß für die Entstehung wirksamer Kältesera die Schilddrüse notwendig ist, während ihr Wirkstoff selbst unfähig ist, im Muskel die Verbrennungen zu beschleunigen, ließ es wahrscheinlich erscheinen, daß bei der Regulation gegen Kälte zwar Thyroxin an das Blut abgegeben wird, aber die Verbrennungen im Muskel nicht unmittelbar, sondern durch Entstehenlassen eines zweiten Wirkstoffs fördert.

Um die Richtigkeit dieser Vermutung zu prüfen, sind wir so vorgegangen, daß wir statt der Kälteeinwirkung den Blutspendern 0,5 mg

Thyroxin ins Blut injizierten und nach einer Stunde Blut entnahmen und die so gewonnenen „Thyroxinsera" normalen Blutempfängern injizierten.

Das Ergebnis ist in Tabelle 4 zu sehen.

Tabelle 4. Wirkung der „Thyroxinsera" auf den O_2-Verbrauch des Muskels von normalen Blutempfängern.

Versuch Nr.	Datum 1939	Blutspender (0,5 mg Thyroxin intravenös)	Blutempfänger (normal)	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde: vor Seruminjektion	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde: 30′ nach Seruminjektion	Differenz %
8	17. III.	H.	15	216	293	+ 35
			16	186	273	+ 46
			17	128	267	+ 108
9	18. III.	I.	18	233	280	+ 20
			19	159	293	+ 84
			20	176	262	+ 48

Die Injektion von Thyroxin ins Blut ist, wie wir sehen, von gleicher Wirksamkeit wie die Regulation gegen Kälte. In beiden Fällen gelangen in das Blut Stoffe, welche auf andere Tiere übertragen, im isolierten Muskel die Verbrennungen steigern. Daraus mußte gefolgert werden, daß die unentbehrliche Rolle der Schilddrüse für das Wirksamwerden der Kältesera darin besteht, daß sie zufolge der Kältewirkung zur Abgabe von Thyroxin veranlaßt wird und das Thyroxin zur Entstehung eines zweiten Wirkstoffs führt, welcher mit dem Serum übertragbar ist und die Verbrennungen im Muskel beschleunigt. Die Herkunft dieses Wirkstoffs auszuforschen, war unsere nächste Aufgabe.

d) Beteiligung der Hypophyse bei der Regulation gegen Kälte.

Es war nicht zweifelhaft, daß die Mobilisierung des eigentlichen Wirkstoffs der Kältesera durch Thyroxin aus einem der endokrinen Drüsen erfolgt, welche nach früheren Untersuchungen in den Wärmehaushalt eingreifen. Wir dachten in erster Reihe an die Nebenniere, welche nach Cannon[22], sowie Geiger[22a] bei der Regulation gegen Kälte eine Rolle spielt, zweitens an die Hypophyse, deren Bedeutung für die Wärmeregulation seit Hashimotos[23] Untersuchungen unter Diskussion steht.

Wir prüften dementsprechend, ob durch Ausschaltung dieser Organe die Entstehung wirksamer Sera verhindert wird.

[22] Cannon, W. B.: The wisdom of the body 194. New-York 1932. (Zit. nach Thauer). — [22a] Geiger, E.: Wärmeregulation und innere Sekretion. Klin. Wschr. **1933**, II, S. 1313. — [23] Hashimoto, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **78**, 394 (1915); **101**, 218 (1924). Vgl. auch G. Kuschinsky: Ebenda, **179**, 726 (1935).

Zu diesem Zweck hatten wir den Blutspendern beide Nebennieren unterbunden, $^1/_2$—1 Stunde gewartet, bis sie sich von diesem Eingriff — der nur wenige Minuten dauert — erholten und injizierten dann 0,5 mg Thyroxin intravenös. Nach einer weiteren Stunde wurden sie verblutet und das Serum normalen Kaninchen eingespritzt.

Die Entfernung der Hypophyse geschah in leichter Äthernarkose. Eindringen am Hals lateral vom Zungenbein. Durch Anbohren der Schädelbasis die Hypophyse freigelegt und mittels Saugpumpe entfernt. Die Tiere kommen nach der Operation für eine Nacht in den Wärmeschrank, erholen sich sehr rasch und haben schon am nächsten Tag — im Gegensatz zu den Befunden Hashimotos[23], — normale Körpertemperatur und befinden sich in einem guten Allgemeinzustand. 1—2 Tage nach der Operation werden sie zum Versuch verwendet, indem sie 1 Stunde nach der Injektion von 0,5 mg Thyroxin zur Serumgewinnung entblutet werden. Das Ergebnis zeigt Tabelle 5.

Tabelle 5. Wirkung der „Thyroxinsera" nebennierenloser bzw. hypophysenloser Tiere auf den O_2-Verbrauch des Muskels von normalen Blutempfängern.

Versuch Nr.	Datum 1939	Blutspender (0,5 mg Thyroxin intravenös)	Blutempfänger (normal)	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde: vor Seruminjektion	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde: 30′ nach Seruminjektion	Differenz %
10	22. III.	K. Nebennieren entfernt	21	186	211	+ 17
			22	89	109	+ 22
11	23. III.	L. Nebennieren entfernt	23	210	207	± 0
			24	179	228	+ 27
12	24. III.	M. Nebennieren entfernt	25	258	262	± 0
			26	191	253	+ 33
13	27. III.	N. Hypophyse entfernt	27	221	196	− 11
			28	236	223	− 5
14	28. III.	O. Hypophyse entfernt	29	243	267	+ 9
			30	236	241	+ 2

Wir sehen, daß während die Ausschaltung der Nebennieren belanglos für die Entstehung des Serumwirkstoffs ist, die Tiere mit der Hypophyse die Fähigkeit verloren hatten durch Thyroxinzufuhr wirksame Sera zu liefern.

Es fragte sich noch, ob auch die Kälteeinwirkung der Hypophyse bedarf, um wirksames Kälteserum zu produzieren?

Dies prüften wir an hypophysektomierten Blutspendern, die wir in üblicher Weise der Kältewirkung aussetzten. Diese Versuche sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Tabelle 6. Unwirksamkeit des Blutserums gekühlter hypophysenloser Tiere auf den O_2-Verbrauch des Muskels.

Versuch Nr.	Datum 1939	Blutspender (hypophysenlos)	Blut-empfänger	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde: vor Seruminjektion	30′ nach Seruminjektion	Differenz %
33	28. III.	P.	31	237	245	+ 3
			32	211	214	± 0
34	29. III.	Q.	33	294	286	− 3
			34	250	261	+ 4

Es zeigte sich also, daß hypophysektomierte Tiere der Kälte ausgesetzt, ebenso unwirksame Sera liefern als wir es schon an schilddrüsenlosen Tieren sahen (s. Tabelle 3), so daß für das Erscheinen eines verbrennungssteigernden Stoffes (Heizhormon) im Blute das Zusammenwirken von Schilddrüse und Hypophyse notwendig ist, und zwar so, daß bei der Regulation gegen Kälte aus der Schilddrüse Thyroxin an das Blut abgegeben wird und dieses unter Vermittlung der Hypophyse zur Bildung eines Wirkstoffs führt, welcher numoral übertragbar ist und an normalen Tieren die Verbrennungen im Muskel steigert.

Die weitere Frage, auf welchem Wege bei der Regulation gegen Kälte die Schilddrüse ihre Impulse zur Thyroxinabgabe erhält — ob auf nervösem oder hormonalem Wege, ist von hoher Bedeutung im Angesicht der von Thauer[18] und von Popoff[19] beschriebenen peripheren Wärmeregulation und wird in Gemeinschaft mit dieser in einer späteren Mitteilung näher behandelt werden. Erwähnen möchten wir in diesem Zusammenhang noch den — übrigens nicht überraschenden Befund —, daß die Injektion von thyreotropem Hormon ebenso wirksame Sera liefert als die Injektion von Thyroxin. Aus diesem Befund aber zu schließen, daß die Einwirkung von Kälte eventuell durch verminderte Bluttemperatur die Hypophyse zur Sekretion von thyreotropem Hormon veranlaßt und dadurch, also mit Ausschluß des Nervensystems, die eben beschriebene hormonale Regulation in Gang setzt, erscheint uns — so sehr verlockend es auch für das Verständnis der sogenannten peripheren Wärmeregulation wäre — mehr als fraglich, da unsere später mitzuteilenden Versuche über den Mechanismus der peripheren Wärmeregulation gegen diese Annahme sprechen.

f) Jahreszeitliche Änderung der hormonalen Regulation.

Wie alle von uns geprüften Thyroxinwirkungen ist auch die eben beschriebene jahreszeitlichen Änderungen unterworfen. Wir fanden nämlich, daß nach Eintritt des Frühjahrs, und zwar im Monat April des vergangenen

Jahres (1939), es weder durch Kälteeinwirkung, noch durch Thyroxinzufuhr möglich war, wirksame Sera zu erhalten. Das Versagen der Kälte — sowie der Thyroxinwirkung zeigen wir in der Tabelle 7.

Tabelle 7. Unwirksamkeit des Serums gekühlter sowie thyroxinvorbehandelter normaler Tiere im Frühjahr.

Versuch Nr.	Datum 1939	Blutspender	Blutempfänger	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde vor Seruminjektion	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde 30′ nach Seruminjektion	Differenz %
35	3. IV.	R. gekühlt	61	197	185	− 6
			62	192	181	− 5
36	5. IV.	S. gekühlt	63	256	238	− 6
			64	219	218	± 0
37	5. IV.	T. gekühlt	65	315	296	− 6
			66	288	271	− 7
38	31. III.	U. thyroxinvorbehandelt	67	189	205	+ 8
			68	181	178	± 0
39	1. IV.	V. thyroxinvorbehandelt	69	216	221	+ 2
			70	203	191	− 6

Die Versuche stehen im krassen Gegensatz zu den von November 1938 bis März 1939 in vollkommen gleicher Weise ausgeführten Versuche der Tabellen 2, 4 und 5.

Unsere zur Aufklärung dieses Verhaltens an Hunden und Ratten ausgeführten Stoffwechselversuche, über die in der nächstfolgenden Arbeit berichtet wird, sprechen dafür, daß nicht die Bildung des Serumwirkstoffs versagt, sondern die Muskeln des Blutempfängers für den Nachweis gesteigerter Verbrennungen ungeeignet werden.

g) Nachwirkung der hormonalen Regulation gegen Kälte.

Bevor wir die Besprechung der hormonalen Regulation gegen Kälte abschließen, soll noch eine Beobachtung mitgeteilt werden, welche u. a. für die Anpassung des Organismus an Kälte von Interesse ist.

Wie wir sahen, ist das erste Geschehen bei der hormonalen Kälteregulation eine Abgabe von Thyroxin an das Blut. Bekanntlich folgt aber jeder Thyroxingabe eine Oxydationssteigerung in den vegetativen Organen, welche nach etwa 24 Stunden ihren Höhepunkt erreicht. Gelangt bei der Kälteregulation in der Tat Thyroxin ins Blut, so muß nach Ablauf von 24 Stunden in den vegetativen Organen eine Steigerung der Verbrennungen stattfinden. Um dies zu prüfen, hatten wir für die Bestimmung des O_2-Verbrauchs in der von uns [20] beschriebenen Weise Kaninchen kleine Leberstückchen exstirpiert und dann die Tiere in üblicher Weise der Kälte-

Tabelle 8. Verbrennungssteigerung in den Leberzellen 24 Stunden nach der Kältewirkung.

Datum 1940	cmm O_2-Verbrauch je g Leber und Stunde		
	vor der Kältewirkung	24 Stunden nachher	Differenz %
9. II.	546,8	741,9	+ 36
9. II.	473,2	661,9	+ 40
10. II.	448,3	651,9	+ 45
10. II.	566,0	745,2	+ 32

wirkung ausgesetzt. 24 Stunden später wurde die Leberentnahme wiederholt und der O_2-Verbrauch in den Leberzellen bestimmt.

Das Ergebnis zeigt Tabelle 8.

Wir sehen in Bestätigung der oben mitgeteilten Befunde, daß die einmalige Abkühlung des Körpers mit anschließender Kälteregulation nach 24 Stunden eine ähnliche Steigerung der Verbrennungen in der Leber herbeiführt, wie wir es nach Verabreichung von Thyroxin sehen[20].

Diese Nachwirkung der Kälteregulation für die Verbrennungen in den vegetativen Organen gibt uns für eine Reihe längst bekannter Tatsachen die Erklärung. So in erster Reihe für die bekannte „Gewöhnung" an kalte Witterung, welche wie wir eben sahen, von einer Thyroxinsteigerung des Ruheumsatzes bedingt ist, der also ohne Kälteempfindung einen wirksamen Schutz gegen Abkühlung sichert.

Wir verstehen aber auch, warum bei Sommerhitze starke und gar wiederholte Abkühlung des Körpers nur augenblickliche Erleichterung mit nachträglich verstärktem Hitzegefühl bewirkt, da doch das während der Abkühlung produzierte Thyroxin nicht nur über die Hypophyse zu einer unmittelbar anschließenden, sondern einer spät einsetzenden und anhaltenden Steigerung der Wärmeproduktion führt. Daß in den Tropen warme Bäder und Getränke einen viel besseren Schutz gegen Hitze bieten, ist eine alte Erfahrungstatsache, deren Ursache aus dem eben mitgeteilten sowie aus dem nächsten Kapitel verständlich wird.

Daß die vor einigen Jahrzehnten gegen „Nervosität" vielgepriesenen kalten Bäder und Duschen sehr bald wegen Verschlimmerung der nervösen Zustände aufgegeben wurden, dürfte ihre Erklärung darin haben, daß für eine gesteigerte Erregbarkeit des Nervensystems wohl kaum etwas schädlicher sein kann als wiederholte Thyroxininkretion ins Blut, wie es zufolge Kälteeinwirkung der Fall ist.

Im folgenden berichten wir über die hormonale Regulation gegen Wärme.

IV. Die Regulation gegen Wärme.

a) Wirkung des Blutserums erwärmter Tiere auf den O_2-Verbrauch des Muskels.

Während unsere eingangs erwähnten Versuche über die Wirkung der Kältesera auf den Zuckerverbrauch histologische und experimentelle Nachprüfung und Bestätigung fanden, blieb die Beobachtung, daß das

Blutserum erwärmter Tiere den hohen Zuckerverbrauch der Herzen frierender Tiere herabsetzt (s. Tabelle 1) und daß auch dies von der Schilddrüsentätigkeit bedingt ist, völlig unbeachtet.

Teils die Möglichkeit, die Frage nunmehr mit exakteren Methoden zu prüfen, teils manche seither bekannt gewordenen Tatsachen über die Schilddrüsentätigkeit in der warmen Jahreszeit[24], war für uns die Veranlassung, auch die hormonalen Faktoren der Regulation gegen Überwärmung einer erneuten Prüfung zu unterziehen. Der Verlauf der Versuche war der gleiche wie in den beschriebenen Versuchen, nur wurden die Blutspender einer erhöhten Außentemperatur ausgesetzt, wie es im Kapitel Methodik im einzelnen beschrieben ist. Als Test für die Wirksamkeit der „Wärmesera" diente auch hier der Gastrocnemius von Kaninchen, suspendiert in reinem Sauerstoff, dessen O_2-Verbrauch manometrisch nach Warburg bestimmt wurde.

In Tabelle 9 finden wir das Ergebnis dieser Versuche zusammengestellt.

Tabelle 9. Wirkung von 5—10 ccm Blutserum erwärmter Tiere auf den O_2-Verbrauch von Muskeln der Blutempfänger.

Versuch Nr.	Datum 1938	Blutspender	Blutempfänger	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde vor Seruminjektion	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde 30′ nach Seruminjektion	Differenz %
8	16. XI.	Aw.	71	266	218	— 18
9	17. XI.	Bw.	72	238	194	— 18
10	18. XI.	Cw.	73	219	199	— 9
			74	236	192	— 18
11	21. XI.	Dw.	75	243	212	— 12
12	23. XI.	Ew.	76	205	202	± 0
			77	255	198	— 22
			78	243	189	— 22
13	24. XI.	Fw.	79	271	215	— 20
			80	188	201	+ 7
			81	232	225	— 3
14	26. XI.	Gw.	82	227	208	— 8
			83	278	204	— 26

Die Versuche zeigen deutlich, daß das Serum der erwärmten Tiere die Fähigkeit besitzt, die Verbrennungen im Muskel zu hemmen.

Nicht an jedem Blutempfänger konnte in der angewandten Menge eine Hemmung erzielt werden, aber jedes geprüfte Serum führte mindestens an einem der Blutempfänger eine deutliche Herabsetzung der Muskeloxydationen herbei, die zwischen 12 und 26% schwankte.

[24] Alwall, Nils, G. Mansfeld u. Irene Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 486 (1937); Mansfeld, G., u. Irene Scheff-Pfeifer: Ebenda **190**, 565 (1938).

Auch die Regulation gegen Wärme läßt also in das Blut einen Wirkstoff gelangen, der, auf normale Tiere übertragen, die Verbrennungen im Muskel mindert und diese Oxydationshemmung auch nach Abtrennung des Muskels vom Nervensystem fortbesteht.

Dieser Befund gibt eine Erklärung für die Befunde von Plaut und Wilbrand[17], in welchen sie nach einer Überwärmung (nachdem die Rektaltemperatur wieder die Norm erreicht hatte) einen Abfall des Stoffwechsels unter den Ausgangswert fanden, woraus sie auf eine chemische Wärmeregulation gegen Überwärmung schlossen, die sie als „zweite chemische Wärmeregulation" bezeichneten.

Es kann nach den mitgeteilten Versuchen kaum daran gezweifelt werden, daß eine solche nicht nur möglich, sondern höchst wahrscheinlich ist und daß es sich dabei um einen in der Wärme gebildeten humoral übertragbaren chemischen Stoff handelt, den wir in unserer früheren Mitteilung[4] als „Kühlhormon" bezeichneten.

b) Unwirksamkeit des „Warmserums" schilddrüsenloser Tiere.

In der folgenden Versuchsreihe hatten wir den Blutspendern die Schilddrüse entfernt und das nach der Einwirkung von hoher Außentemperatur gewonnene Blutserum normalen Blutempfängern eingespritzt.

Das Ergebnis zeigt Tabelle 10.

Tabelle 10. Wirkung von 5—10 ccm Blutserum erwärmter schilddrüsenloser Tiere auf den O_2-Verbrauch des Muskels.

Versuch Nr.	Datum 1938	Blutspender (schilddrüsenlos)	Blutempfänger	cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde: vor Seruminjektion	30′ nach Seruminjektion	Differenz %
15	30. XI.	Hw.	84	210	202	— 8
			85	210	186	— 11
			86	227	202	— 11
16	1. XII.	Iw.	87	218	238	+ 9
			88	238	224	— 5
			89	211	221	+ 5
17	2. XII.	Kw.	91	197	214	+ 8
			92	237	217	— 8
			93	229	223	— 2
18	5. XII.	Lw.	94	231	205	— 9
			95	249	242	— 2
19	7. XII.	Mw.	96	262	269	+ 2
			97	268	262	— 2

Das Serum von 5 schilddrüsenlosen erwärmten Blutspendern erwies sich an 13 Blutempfängern als unwirksam, denn in keinem Fall sehen wir

eine die Fehlergrenze überschreitende Hemmung der Verbrennungen im isolierten Muskel. Der beim Aufenthalt in hoher Außentemperatur gebildete verbrennungshemmende Wirkstoff stammt also aus der Schilddrüse.

Weitere Untersuchungen, über welche in den 2 folgenden Mitteilungen berichtet werden wird, zeigten, daß für die Entstehung dieses Wirkstoffs die Tätigkeit der Hypophyse unnötig ist und führten schließlich zu seiner Isolierung aus der Schilddrüse.

V. Besprechung der Versuche.

Durch die mitgeteilten Versuche ließen sich unsere älteren Untersuchungen, welche erstmalig auf die Rolle der Schilddrüse bei der Wärmeregulation hinwiesen, nicht nur bestätigen, sondern in manchen Punkten ergänzen. Die Unstimmigkeit jener Befunde mit den inzwischen erkannten Thyroxinwirkungen mußten berechtigte Zweifel erwecken, denn es war nicht verständlich, wieso die Thyroxinwirkung mit ihrer langen Latenz die augenblicklichen Bedürfnisse des frierenden Organismus befriedigen soll. Die Erkenntnis, daß das Thyroxin — selber unfähig, durch Steigerung der Verbrennungen im ruhenden Muskel dem Frierenden sofortige Hilfe zu leisten — die Hypophyse dazu veranlaßt, einen Wirkstoff ins Blut abzugeben, der dies besorgt, führte zu einem Ausgleich dieses Widerspruches.

Wir glauben, daß die Wiederaufnahme unserer alten Versuche auch dadurch einen Fortschritt bedeutet, daß wir klareren Einblick in den Mechanismus und auch in die noch unklare Bedeutung dieser hormonalen Wärmeregulation erhielten.

Wichtig scheint uns, daß bei der Regulation gegen Kälte ein Stoff gebildet wird, der die Verbrennungen im ruhenden Muskel steigert und damit eine Steigerung der Wärmebildung ohne Muskelzittern ermöglicht, was für das Erdulden von Temperaturen unterhalb der Behaglichkeitsgrenze sicher von großer Wichtigkeit ist, denn jeder, der in seinem Leben viel gefroren hat, weiß, was für eine Qual es ist zu „frieren" und weiß auch, daß man dauernd nicht „frieren" kann, ohne schwer erschöpft zu werden. Es ist also wahrscheinlich nicht gleichgültig, daß unsere Schilddrüse mit Zuhilfenahme der Hypophyse das „Frieren" so lange aufschiebt wie nur möglich, um uns vor seiner Qual zu bewahren. Dies scheint eine wichtige Aufgabe der hormonalen Wärmeregulation zu sein, die wir auch als „akute" bezeichnen könnten und welche vielleicht ihre größte Bedeutung im Organismus von Tieren erlangt, die im strengen Winter unter freiem Himmel schlafen, ein Vorgang, mit welchem das „Muskelzittern" wohl unvereinbar ist.

Eine weitere Bedeutung kommt u. E. jenem Faktor der hormonalen Kälteregulation zu, welcher, wie wir sahen, durch Thyroxinproduktion den Vorgang einleitet, aber erst im späteren Verlauf für die Wärme

produktion sich auswirkt. Wie wir schon oben andeuteten, muß diese zwar spät einsetzende, aber beständige Steigerung des Ruheumsatzes in den vegetativen Organen — die bisher unbekannt war — von hoher Bedeutung sein für das Erdulden niederer Temperaturen und für die Anpassung an kalte Umgebung, denn diese durch Thyroxin gesteigerte Wärmeproduktion ohne sichtbare Muskeltätigkeit ist eine unbewußte und von lästigem Kältegefühl unabhängige.

Schließlich kommt aber bei der Regulation gegen Kälte dem sezernierten Thyroxin noch eine weitere sehr wichtige Rolle zu, und zwar daß, wie zuerst von Chachovits[25] gezeigt worden ist, die Wirksamkeit des Muskelzitterns für die Wärmebildung also der calorische Effekt der Muskelkontraktion durch Thyroxin wesentlich verstärkt wird, so daß die Kältesekretion des Thyroxins auch dann eine günstige Wirkung entfaltet, wenn es — wie bei excessiver Kälte — das Muskelzittern nicht verhindern kann.

Aber die Erhaltung der Temperatur ist nicht nur ein Winterproblem, sondern auch die Überhitzung im Sommer birgt Leiden und Gefahren in sich. Der Nachweis, daß bei hohen Umgebungstemperaturen ein Stoff von der Schilddrüse produziert wird, welcher den Ruheumsatz im Muskel und, wie wir später sehen werden, auch in anderen Organen herabsetzt, zeigt, daß wir dank dieser Inkretdrüse unsere Wärmebildung tief unter den Ruheumsatz zu senken imstande sind und durch diese „zweite chemische Wärmeregulation" ein Schutz gegen Überwärmung gewährleistet ist, was von besonderer Bedeutung sein dürfte, wenn wir genötigt sind, bei großer Hitze Arbeit zu leisten.

Zusammenfassung.

In Bestätigung und Ergänzung früherer Ergebnisse über die Rolle der Schilddrüse bei der chemischen Wärmeregulation konnten folgende Tatsachen ermittelt werden:

I. Die Regulation gegen Kälte.

1. Die Regulation gegen niedere Außentemperatur läßt einen Wirkstoff in das Blut gelangen, welcher mit dem Serum auf andere Tiere übertragbar ist und an diesen ohne Latenzzeit die Verbrennungen im vom Nervensystem abgetrennten Skeletmuskel in die Höhe treibt.

2. Dieses Wirksamwerden der Sera in kalter Umgebung erfolgt nur, wenn die Schilddrüse tätig ist.

3. Wird Thyroxin Tieren intravenös einverleibt, so erlangt das Serum im Übertragungsversuch die gleiche Fähigkeit als wenn die Tiere der Kälte ausgesetzt worden wären, was darauf schließen läßt, daß in der Kälte Thyroxin in das Blut abgegeben wird.

[25] Chachowitsch, X.: C. r. soc. Biol. **100**, 1220 (1929).

4. Daß dies tatsächlich der Fall ist, dafür spricht, daß 24 Stunden nach der Kälteeinwirkung — ebenso wie nach Thyroxinverabreichung — die Verbrennungen in der Leber um 32—45% gesteigert sind.

5. Für das Wirksamwerden der Sera durch Kälte oder Thyroxinzufuhr ist die Tätigkeit der Hypophyse aber nicht die der Nebenniere, notwendig, woraus folgt, daß das in der Kälte gebildete Thyroxin die Hypophyse zur Abgabe eines die Muskeloxydation fördernden Wirkstoffs veranlaßt, während es selbst eine erst nach 24 Stunden einsetzende Steigerung der Verbrennungen in den vegetativen Organen (Leber) bewirkt.

II. Die Regulation gegen Wärme.

6. Hohen Außentemperaturen (30—33° C) ausgesetzte Tiere geben an das Blut einen Wirkstoff ab, welcher im Serumübertragungsversuch die Verbrennungen im vom Nervensystem abgetrennten Muskel einschränkt.

7. Das Entstehen dieses Wirkstoffs ist an die Tätigkeit der Schilddrüse gebunden.

8. Über das Versagen der Übertragungsversuche im Frühjahr und seine Ursache wird in der folgenden Mitteilung berichtet.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs.

Weitere Untersuchungen über humorale Übertragbarkeit der chemischen Wärmeregulation.

Von

G. Mansfeld und **Eszter Mészáros.**

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. August 1940.)

I. Einleitung.

In der vorstehenden Mitteilung wurde gezeigt, daß im Organismus sowohl bei niederer als bei hoher Außentemperatur besondere chemische Stoffe in das Blut gelangen, welche die Verbrennungen in den peripheren Organen, und zwar auch nach ihrer Abtrennung vom Zentralnervensystem, sehr wirksam in einer der Wärmeregulation entsprechenden Weise beeinflussen. Als Testobjekt zum Nachweis dieser Serumstoffe diente der isolierte unzerkleinerte Skeletmuskel, dessen O_2-Verbrauch wir manometrisch nach Warburg bestimmten.

Obschon durch diese Versuchsanordnung der Nachweis möglich geworden ist, daß die bei der Wärmeregulation beteiligten Hormone ihre Wirkung unabhängig vom Zentralnervensystem in den Organzellen entfalten, hatte sie den Nachteil, daß sie nur „Momentaufnahmen" der Serumwirkung zur Darstellung brachte, ohne anzuzeigen, ob der Zeitpunkt der Isolierung gerade jener war, in welchem die Wirkung der Sera ihren Höhepunkt erreichte und nicht vielleicht schon abgeklungen war oder noch nicht eingesetzt hatte. Ein weiterer Nachteil der Methodik war, daß, wie wir sahen, die Blutsera am isolierten Muskel nicht zu jeder Jahreszeit wirksam waren und besonders die Wirkung der Wärmesera in den Muskeln verschiedener Tiere ungleichmäßig zur Geltung kam.

Um näheren Einblick einerseits in die zeitlichen Verhältnisse, andererseits in die näheren Bedingungen der Serumwirkung zu bekommen, schien es uns notwendig, sie auch noch am ganzen Tier in fortlaufenden Gaswechselversuchen zu prüfen. Diese Versuche, die wir zum großen Teil an Hunden ausführten, dienten auch zur Prüfung jener Frage, ob für das Wirksamwerden der Wärmesera die Tätigkeit der Schilddrüse allein genügt oder ob, wie für die Wirkung der Kältesera, die Funktion der Hypophyse notwendig ist.

II. Methodik.

Die Hauptversuche hatten wir an Hunden ausgeführt. Die Blutspender wurden im Wasser von 46° C bzw. von 2 bis 8° C gebadet, bis die erwünschte Überwärmung bzw. Unterkühlung des Körpers erfolgte. Dann wurde durch Aderlaß Blut zur Serumbereitung gewonnen.

Als Blutempfänger dienten in einem Teil der Versuche für den Gaswechselversuch abgerichtete Hunde, die dauernd eine Trachealkanüle trugen, welche für die Dauer des Gaswechselversuchs mit einer Tamponkanüle vertauscht wurde. In diesen Versuchen wurde nur der O_2-Versuch nach Krogh am ungefesselt ruhig liegenden Tier bestimmt.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde an kurarisierten Hunden bei gleichzeitiger Messung des Blutdruckes O_2-Verbrauch sowie CO_2-Bildung mit dem von Mansfeld[1] beschriebenen Stoffwechselapparat zur graphischen Aufzeichnung von O_2-Verbrauch und CO_2-Produktion fortlaufend registriert.

Die Gaswechselversuche an Ratten führten wir im Stoffwechselapparat für kleine Tiere von Belák und Illényi[2] aus, der sich uns sehr gut bewährte.

III. Versuche.

a) Wirkung der Wärmesera auf den O_2-Verbrauch von Hunden.

In dieser Versuchsreihe verwendeten wir als Blutspender teils normale Hunde, teils solche, denen die Schilddrüse bzw. Hypophyse entfernt wurde und die im Wasserbad von 46° C 30—45 Minuten lang gehalten worden sind, bis eine Erhöhung der Körpertemperatur von 3—4° C erreicht war.

Die Entfernung der Schilddrüse geschah unter Schonung von 2 Epithelkörperchen, die Hypophyse nach der von Mosonyi[3] beschriebenen Operationstechnik. Als Stoffwechselhund diente ein gut abgerichteter Hund von 16,5 kg Körpergewicht.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt, woraus hervorgeht, daß bis auf einen Versuch die Wärmesera normaler Blutspender eine sehr beträchtliche Einschränkung des O_2-Verbrauchs bewirkten, welche 20 bis 30% beträgt und ihr Maximum in der 3. bis 5. Stunde erreicht. Die gleiche Wirkung hatte das Blutserum eines Hundes, dessen Hypophyse, wie auch die Obduktion feststellte, vollständig entfernt war.

Für die Bildung des Wirkstoffs der Wärmesera ist also die Tätigkeit der Hypophyse unnötig.

Dagegen sehen wir, daß in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorstehenden Mitteilung die Wärmesera schilddrüsenloser Blutspender

[1] Mansfeld, G.: Apparat zur graphischen Registrierung von O_2-Verbrauch und CO_2-Produktion. Klin. Wschr. **12**, 668 (1933). — [2] Belák, S., u. A. Illényi: Biochem. Z. **281**, 27 (1935). — [3] Mosonyi, Johann: Pflügers Arch. **242**, 92 (1939).

Tabelle 1.

Wirkung der Wärmesera auf den O_2-Verbrauch von Hunden.

Datum	O_2-Verbrauch ccm/Min. (0° C 760 mm) vor Seruminjektion	O_2-Verbrauch ccm/Min. (0° C 760 mm) nach Seruminjektion	Differenz %	Wirkungsmaximum nach Std.	Blutspender
15. XII. 1939	132	106	— 19,6	5	normal
9. I. 1940	117	81	— 30,7	4	
27. I. 1940	118	82	— 30,6	3	
8. III. 1940	136	118	— 13,0	4	
11. III. 1940	141	104	— 26,2	5	hypophysenlos
13. III. 1940	166	148	— 12,0	2	schilddrüsenlos
18. III. 1940	134	117	— 11,0	3	

unwirksam sind. Daß die Schilddrüse nicht nur — wie bei der Kälteregulation — den Anstoß für die Bildung des „Kühlhormons" abgibt, sondern daß dieser Wirkstoff der Schilddrüse selbst entstammt, das wird in der folgenden Mitteilung gezeigt.

b) Versagen der Serumwirkung im Frühjahr.

Eine weitere Prüfung der Wärmesera scheiterte daran, daß von Anfang April 1940 an die Wirkungen der Sera sehr unsicher wurden, ja in den meisten Versuchen ganz versagten, wie aus Tabelle 2 ersichtlich. Eine sichere Wirkung war nur in einem Versuch (Nr. 10) zu verzeichnen.

Tabelle 2.

Wirkung der Wärmesera auf den O_2-Verbrauch von Hunden im Frühjahr.

Versuch Nr.	Datum 1940	Stoffwechselhund	O_2-Verbrauch ccm/Min. (0° C 760 mm) vor Seruminjektion	O_2-Verbrauch ccm/Min. (0° C 760 mm) nach Seruminjektion	Differenz %	Wirkungsmaximum nach Std.
8	3. IV.	B.	125	109	— 11	4
9	10. IV.	B.	125	107	— 14	**3**
10	7. V.	B.	121	91	— 24	3
11	17. IV.	C.	88	97	+ 10	3
12	10. V.	C.	83	91	+ 10	3

Also ungefähr zur selben Zeit, in welcher im vergangenen Jahre die Wirkungen der Kältesera für die Oxydationen des isolierten Muskels versagten, sehen wir auch ein Unwirksamwerden der Wärmesera am ganzen Tier. Sehr bemerkenswert scheint uns, daß während die Apriltage 1939 ausgesprochen warm waren, im April 1940 noch Wintertemperaturen herrschten, was wieder dafür spricht, daß diese mit der Schilddrüsentätigkeit zusammenhängenden Saisonänderungen nicht von der Witterung bedingt sind, wie wir es schon früher festzustellen Gelegenheit hatten [4].

[4] Mansfeld, G.: Klin. Wschr. **14**, 884 (1935).

Die Feststellung der Tatsache, daß diese jahreszeitliche Änderung der Serumwirkung nicht nur am isolierten Muskel, sondern auch am ganzen Tier zur Geltung kommt, erwies sich als sehr nützlich und gewährte uns Einblick in die nähere Ursache dieser unliebsamen Versager. Es war nämlich sehr auffallend, daß eine Durchsicht der Versuche von A. Montuori[5], der seine Übertragungsversuche an Hunden im Calorimeter ausführte, also unmittelbar die Wärmebildung maß, zu dem Ergebnis führte, daß keine jahreszeitliche Änderung der Serumwirkung zu beobachten war, was darauf hinwies, daß vielleicht nicht die Wirkung der Sera auf die Wärmeproduktion, sondern nur auf den von uns bestimmten O_2-Verbrauch sich im Frühjahr ändert. Wie nämlich längst bekannt, läßt sich aus dem O_2-Verbrauch allein auf die Verbrennungen nur dann schließen, wenn der ganze verbrauchte O_2 für Verbrennungen verwendet wird. Zu ganz falschen Schlüssen gelangt man aber, wenn man aus dem O_2-Verbrauch allein auf die Verbrennungen schließt, wenn z. B. ein Teil des Sauerstoffs zum Aufbau O_2-reicher Verbindungen verwendet wird.

Es lag durchaus im Bereich der Möglichkeit, daß im vorliegenden Fall gleichzeitig mit der Einschränkung der Verbrennungen durch das „Kühlhormon" im Frühjahr eine Anreicherung von Glykogen einhergeht und somit ein Teil des gesparten Sauerstoffs zum Aufbau von Glykogen aus O_2-ärmeren Verbindungen verwendet wird. Um diese Möglichkeit zu prüfen, mußte außer dem O_2-Verbrauch auch die CO_2-Bildung bestimmt werden.

Nachdem für das Erhalten richtiger CO_2-Werte die gleichmäßige Atmung Vorbedingung ist, dies aber bei den spontan atmenden Hunden nicht gesichert ist, weil gerade nach den Seruminjektionen beschleunigte Atmung keine Seltenheit ist, entschlossen wir uns, diese Versuche an kurarisierten, künstlich beatmeten Hunden auszuführen. Die Tiere waren vor Wärmeverlust geschützt, und während des ganzen Versuchs wurde der Blutdruck fortlaufend in der Femoralarterie gemessen und eine Blutdrucksenkung durch Überdosierung von Curare vermieden. Wie schon in Kapitel Methodik erwähnt, wurden die O_2- und CO_2-Werte mit dem Mansfeldschen[1] Stoffwechselapparat graphisch aufgezeichnet. Die Methode hat außer der graphischen Aufzeichnung beider Gaswechselwerte den Vorteil, daß die Tiere nicht O_2, sondern Luft aus dem Apparat atmen, was nicht nur physiologische Bedingungen schafft, sondern eine wichtige Fehlerquelle ausschließt. Bei O_2-Atmung muß nämlich sorgfältig darauf geachtet werden, daß jedesmal eine Vorperiode von mindestens 5 Minuten dem eigentlichen Versuch vorangeht, damit Blut und Körpersäfte mit O_2 gesättigt werden. Wird darauf nicht geachtet, so erhält man viel zu hohe Werte für den O_2-Verbrauch. Für den Stoffwechselversuch verwendeten wir Hunde von 12—13 kg Gewicht, die ohne Betäubung gefesselt wurden.

[5] Montuori, Adolfo: Ric. Biotermiche Napoli 1904.

Die Kanülen für die Trachea, Femoralarterie und Vene wurden in Lokalanästhesie eingeführt. Als Curare verwendeten wir das Präparat Curaril der Byk-Gulden-Werke. Vor jeder Aufnahme wurde durch Stillstellung der künstlichen Atmung geprüft, ob keine spontane Zwerchfellbewegungen ausgeführt werden. Wenn dies der Fall war, wurde Curaril nachgespritzt.

Vor der Einspritzung des Serums wurden 2—3 Normalaufnahmen von je 12 Minuten Dauer gemacht, und nach der Serumeinspritzung erfolgten

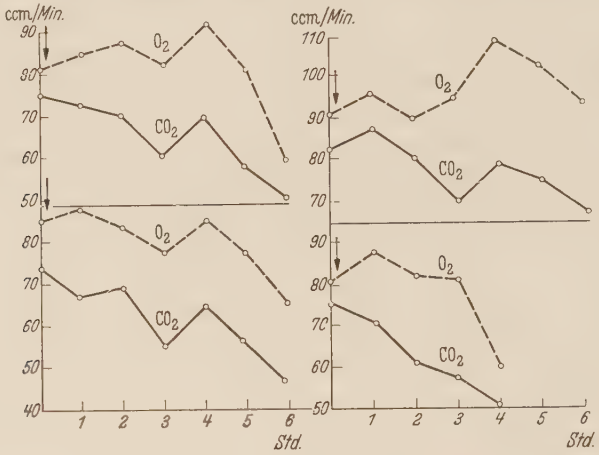


Abb. 1. Wirkung von Wärmesera auf den Gaswechsel curarisierter Hunde am 20.—27. Mai 1940. Beim ↑ 60 ccm Wärmeserum i. v.

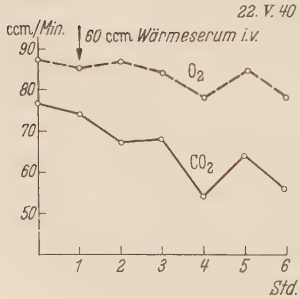


Abb. 2.
Wirkung des Wärmeserums eines hypophysenlosen Blutspenders an einem normalen curarisierten Hund.

die Bestimmungen stündlich bis zu 6 Stunden. Zur künstlichen Atmung diente eine Starlingpumpe. Im folgenden teilen wir den Verlauf unserer Versuche in graphischer Darstellung mit (Abb. 1).

Alle 4 Versuche, die wir mit dem Wärmeserum normaler Tiere sowie mit dem Serum eines hypophysektomierten Tieres ausführten (s. Abb. 2), zeigten die bemerkenswerte Tatsache, daß während die CO_2-Produktion von Anfang an sinkt und meistens nach 3—4 Stunden ihren tiefsten Wert erreicht, der O_2-Verbrauch entweder während des ganzen Versuchs unverändert bleibt, oder erst nach der 4. Stunde eine Abnahme erleidet. Dieses Mißverhältnis zwischen O_2-Verbrauch und CO_2-Bildung führt freilich zu einer beträchtlichen Senkung des RQ.

Aus den mitgeteilten Bildern wird es klar, daß die Bestimmung des O_2-Verbrauchs allein auch in diesen Versuchen zu dem Fehlschluß geführt hätte, daß im Frühjahr die Wärmesera unwirksam seien, während sie in

Wirklichkeit zu einer Einschränkung der Verbrennungen um 20—38% führten.

Wenn wir nach der näheren Ursache dieser eigentümlichen Wirkungsart im Frühjahr fragen, so ist jedenfalls in Erwägung zu ziehen, daß im Winter die Glykogenvorräte auch von Warmblütern drei- bis viermal höher sind als im Frühjahr (Gürber[6], Kiessel[7]) und daß beim Frosch gerade im April-Mai die niedrigsten Glykogenwerte sich vorfinden (Athanasiu[8]). Auch Starkenstein[9] kommt auf Grund einer sorgfältigen Literaturübersicht zu dem Schluß, „daß der Vorrat an Reservestoffen des Organismus in den Wintermonaten am größten ist". Dies könnte die Ursache sein, daß eine Einschränkung der Verbrennungen im Winter bei angefüllten Glykogenspeichern sich in der Verminderung des O_2-Verbrauchs äußert, während in den Monaten höchster Glykogenarmut der gesparte Sauerstoff für den Aufbau von Glykogen retiniert wird. Weitere Untersuchungen werden darüber Klarheit verschaffen.

c) Die Wirkung enteiweißter Sera.

Um die Wirkstoffe der Kälte- sowie Wärmesera näher kennenzulernen, führten wir Versuche aus, die wir wegen der geringen Zahl noch nicht für abgeschlossen halten, aber zufolge ihrer eindeutigen Ergebnisse doch schon kurz mitteilen möchten.

Eine große Schwierigkeit für unsere Arbeit bedeutete es, daß wir die Wirkung der Sera wegen der Giftwirkung artfremden Eiweißes immer nur an Tieren ausprobieren konnten, die mit den Blutspendern gleichartig waren. Sowohl die Versuche an Hunden wie an den isolierten Muskeln von Kaninchen sind recht zeitraubend und wegen der großen Zahl der erforderlichen Versuchstiere auch sehr kostspielig. Dies war der Anstoß zu prüfen, ob nicht die Sera unterkühlter bzw. überwärmter Tiere ihre Wirkung auch nach Enteiweißung beibehalten.

Die Enteiweißung der Sera — wir verwendeten als Blutspender vorläufig nur Hunde — geschah durch Äthanol. Nach Abfiltrieren des Niederschlages und Abdestillieren des Alkohols und Eindampfen im Vakuum bis auf das ursprüngliche Serumvolumen bleibt eine von Lipoiden trübe Lösung, welche keine Biuretreaktion gibt.

Die Wirkung dieser enteiweißten Sera prüften wir auf den Gaswechsel von weißen Ratten (s. Methodik), die 8 Tage vor Beginn und während der Versuche eine Standardkost bekamen, bestehend aus 8 g Weißbrot, 5 g Hafer und 5 ccm Milch je 100 g Körpergewicht[10], was einen gleichmäßigen Gaswechsel sichert.

[6] Gürber, A.: Die Glykogenbildung in der Kaninchenleber zu verschiedener Jahreszeit. Sitzungsber. der Würzburger phys.-med. Ges. **28** (1894). — [7] Kiessel, O.: Ebenda **30** (1896). — [8] Athanasiu, S.: Pflügers Arch. **74**, 561 (1899). — [9] Starkenstein, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 36 (1933). — [10] Oberdisse, K.: Ebenda **162**, 150 (1931).

Das Ergebnis ist aus Abb. 3 und 4 ersichtlich.

Wir sehen zunächst, daß das enteiweißte Wärmeserum (Abb. 3) ebenso wie in den früher mitgeteilten Übertragungsversuchen mit einer Latenz von einigen Stunden den O_2-Verbrauch herabsetzt, und zwar in der angewandten Menge um den sehr beträchtlichen Betrag von 41 %. Das Kälteserum führte enteiweißt zu einer Steigerung des O_2-Verbrauchs um 28 % schon in der ersten Stunde, was wieder genau damit übereinstimmt,

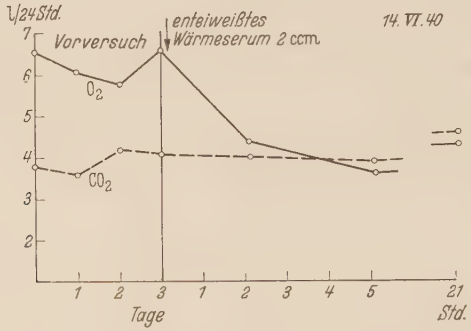


Abb. 3. Wirkung von enteiweißtem Wärmeserum (Hund) auf den Gaswechsel der Ratte.

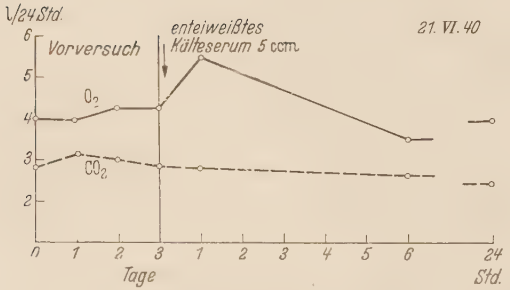


Abb. 4. Wirkung von enteiweißtem Kälteserum (Hund) auf den Gaswechsel der Ratte.

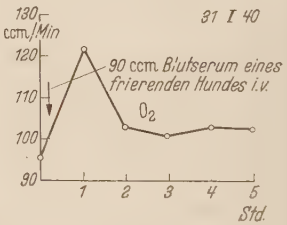


Abb. 5. Zeitlicher Verlauf der Kälteserumwirkung an Hunden.

daß auch bei der Übertragung nicht-enteiweißter Kältesera auf Hunde das Maximum der Wirkung schon in der ersten Stunde zu verzeichnen war, um sehr bald wieder abzuklingen, wie wir es an einem Versuchsbeispiel in Abb. 5 zeigen.

Diese Versuche, insofern sie im weiteren Verlauf unserer Untersuchungen zu gleichen Ergebnissen führen, eröffnen die Möglichkeit, die bei der chemischen Wärmeregulation produzierten Hormone leicht im Blute von Menschen und Tieren nachzuweisen, wodurch der Weg sich eröffnet, näheren Einblick zu gewinnen in die Bedingungen ihres Entstehens, sowie in ihre Bedeutung für den Wärmehaushalt.

Zusammenfassung.

1. Das Blutserum von überwärmten Hunden vermindert den Sauerstoffverbrauch normaler Hunde um 20—30%. Die Verbrennungen erreichen diesen tiefsten Wert nach 3—5 Stunden.

2. Das Serum überwärmter schilddrüsenloser Tiere ist für die Verbrennungen unwirksam, während die Entfernung der Hypophyse die Bildung des „Kühlhormons" nicht vereitelt.

3. Während im Winter die verbrennungshemmende Wirkung des Serums sich in der Abnahme des O_2-Verbrauchs äußert, wird im Frühjahr der gesparte O_2 im intermediären Stoffwechsel — wahrscheinlich zum Glykogenaufbau — verwendet, so daß die verminderte Wärmebildung nur in der Abnahme der CO_2-Produktion in Erscheinung tritt.

4. Die chemische Wärmeregulation gegen Kälte und Wärme läßt sich auch mit enteiweißtem Serum übertragen, was den Weg eröffnet, die bei der Wärmeregulation entstandenen Hormone im Blute von Menschen und Tieren im Stoffwechselversuch an Ratten nachzuweisen, und ihre Wirkungsart und Bedeutung näher kennenzulernen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs.

Das wirksame Prinzip der oxydationshemmenden Schilddrüsentätigkeit.

Von

G. Mansfeld.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. August 1940.)

Wenn man nach dem Vorgehen von Glaubach und Pick[1] Meerschweinchen mit bei D_5—D_8 durchtrenntem Rückenmark 0,2 g/kg Novocain einspritzt, so erfolgt ein vorübergehender Temperatursturz von 4—5° C. Durch eine Analyse dieser Wirkung konnten wir feststellen, daß das Novocain nicht, wie man glaubte, die Verbrennungen mindert, sondern eine Erweiterung der Hautgefäße bewirkt, so daß die Wärmebildung mit der gesteigerten Wärmeabgabe nicht Schritt halten kann[2]. Unsere weiteren Untersuchungen zeigten, daß, wenn man den Novocainversuch in den Wintermonaten an thyroxinvorbehandelten (3 · 0,3 mg) rückenmarkdurchtrennten (rd.) Tieren wiederholt, der Novocaintemperatursturz (NTSt.) ausbleibt, während in der warmen Jahreszeit das Thyroxin in der erwähnten Dosierung die Novocainwirkung unbeeinflußt läßt und nicht einmal die dreifache Thyroxinmenge genügt, um die Novocainwirkung aufzuheben. Auf der Suche nach der Ursache dieser Erscheinung stellte sich heraus, daß die oxydationssteigernde Wirkung des Thyroxins in der warmen Jahreszeit viel geringer ausfällt als im Winter und was für unsere weiteren Versuche entscheidend war, daß nach Entfernung der Schilddrüse im Sommer die Wirksamkeit des Thyroxins auf Verbrennungsvorgänge wieder ihre winterliche Höhe erreicht, so daß nach der Thyrektomie die Sommertiere im Novocainversuch sich genau so verhalten wie Wintertiere[3]. Wir zeigen in Abb. 1 die novocainantagonistische Thyroxinwirkung an Wintertieren, das Unwirksamwerden des Thyroxins im Sommer und die Wiederherstellung der Thyroxinwirkung durch Entfernung der Schilddrüse.

Aus diesen Versuchen mußte gefolgert werden, daß mit Eintritt der warmen Jahreszeit die Schilddrüse einen Wirkstoff zu produzieren beginnt, welcher der oxydationssteigernden Wirkung des Thyroxins entgegenwirkt und dadurch seine Wirksamkeit herabsetzt. Diesen Thyroxinantagonisten in der Schilddrüse aufzufinden war unsere nächste Aufgabe.

[1] Glaubach u. Pick: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 678 (1935). — [2] Alwall, Nils, G. Mansfeld u. I. Scheff-Pfeifer: Ebenda **187**, 486 (1937); sowie Mansfeld, G., u. Eszter Mészáros: Ebenda **196**, 567 (1940). — [3] Mansfeld, G., u. Irene Scheff-Pfeifer: Ebenda **190**, 565 (1938).

Zu diesem Zweck haben wir teils bekannte Schilddrüsenstoffe wie das 3, 5-Dijodthyrosin und das Jodthyreopepton daraufhin geprüft, ob sie die im Winter fehlende Schilddrüsenfunktion ersetzen können, teils haben wir eine Reihe von Stoffen daraufhin geprüft, die wir durch Hydrolyse aus Schilddrüsen gewonnen haben.

Nachdem für die Prüfung dieser Schilddrüsenstoffe immer nur die 3 Wintermonate zur Verfügung standen, so vergingen 4 Jahre, bis es uns im Winter 1940 endlich gelungen ist, einen Wirkstoff aus der Schilddrüse

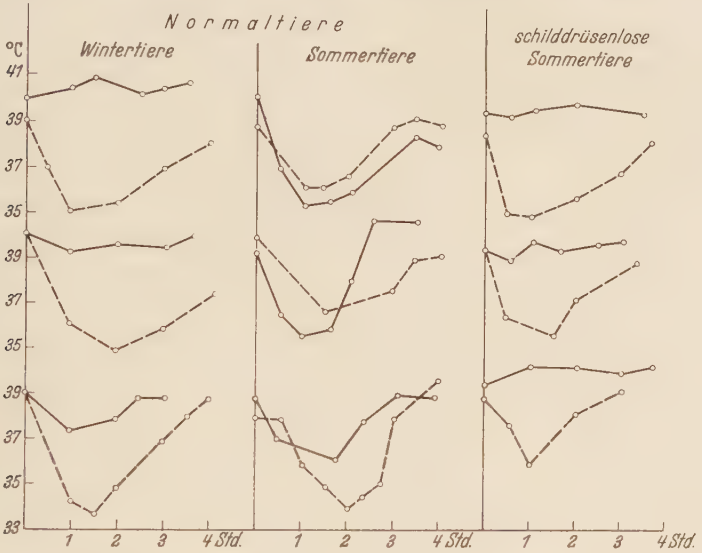


Abb. 1. Novocainantagonistische Thyroxinwirkung im Winter, ihr Versagen im Sommer und ihre Wiederherstellung durch Thyrektomie.
— — — — Novocainwirkung vor 3 × 0,3 mg Thyroxin,
—— Novocainwirkung nach 3 × 0,3 mg Thyroxin.

abzutrennen, der nicht nur die thyroxindämpfende Tätigkeit der Sommerschilddrüsen in vollem Maße zu ersetzen vermag, sondern fähig ist, die Verbrennungen in den Organen, auch wenn sie durch Thyroxin gesteigert sind, tief unter den Ruhewert herabzudrücken.

Im folgenden möchten wir über die Versuche berichten, die zur Erkennung dieses oxydationshemmenden Schilddrüsenhormons führten.

II. Versuche.

a) Die Unwirksamkeit von 3, 5-Dijodthyrosin und Jodthyreopepton.

Die vielen, im Laufe der Jahre mit verschiedenen Schilddrüsenstoffen gewonnenen negativen Ergebnisse hier mitzuteilen erscheint überflüssig.

Nur zwei der Schilddrüse entstammende Verbindungen dürften allgemeines Interesse beanspruchen, und zwar das 3, 5-Dijodthyrosin, welches einige Jahre im Rufe stand, als Antagonist des Thyroxins[4] den Basedow zu heilen und das von Abelin[5] dargestellte Jodthyreopepton, das nach ihm der Oxydationswirkung des Thyroxins entgegenwirken soll und welches in dankenswerter Weise mir von ihm selbst zur Verfügung gestellt wurde.

Um die Schilddrüsenstoffe auf ihre Fähigkeit zu prüfen, an Wintertieren die novocainantagonistische Thyroxinwirkung zu vereiteln, hatten wir in den Wintermonaten rd. Meerschweinchen zunächst einer Vorbehandlung mit der zu untersuchenden Verbindung unterworfen. Dies bestand darin, daß wir diese schon 3—6 Tage vor und während der dreitägigen Thyroxinbehandlung den Tieren einverleibten und an den so vorbehandelten Tieren die Wirksamkeit des Novocains prüften. Jedem dieser Hauptversuche ging ein Vorversuch voran, in welchem die Novocainwirkung allein geprüft wurde und parallel mit diesen Versuchen wurde die Wirksamkeit des Thyroxins allein auch an unvorbehandelten Tieren geprüft.

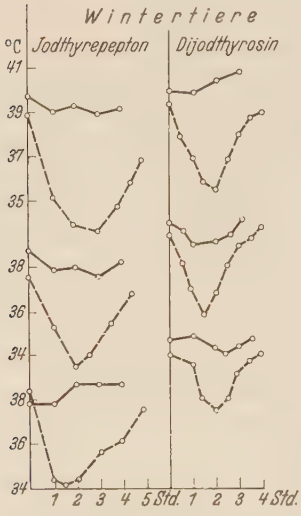


Abb. 2.
Novocainantagonistische Thyroxinwirkung nach Vorbehandlung mit Jodthyreopepton bzw. Dijodthyrosin.
— · — · — Novocainwirkung vor 3 × 0,3 mg Thyroxin,
Novocainwirkung nach 3 × 0,3 mg Thyroxin.

In Abb. 2 bringen wir je 3 Versuchsbeispiele, in denen wir mit Dijodthyrosin bzw. Jodthyreopepton die Thyroxinwirkung zu verhindern versuchten. Von dem Dijodthyrosin erhielten die Tiere 3 Tage vor und 3 Tage während der Thyroxinbehandlung subcutan je 10 mg. Das Jodthyreopepton verabreichten wir nach der Vorschrift von Abelin[5] enteral mit der Schlundsonde, und zwar je 10 mg 6 Tage vor und 3 Tage während der Thyroxinbehandlung.

Wie wir sehen, erwiesen sich beide Substanzen als völlig wirkungslos, denn das Thyroxin verhinderte in allen Versuchen den NTSt., wie es an Wintertieren die Regel ist.

Weder das Dijodthyrosin, noch das Jodthyreopepton besitzen also die Fähigkeit, jene Schilddrüsenfunktion zu ersetzen, welche mit Eintritt des Frühjahrs die Oxydationswirkung des Thyroxins hemmt.

[4] Abelin u. Schönenberger: Z. exper. Med. **90**, 489 (1933). — [5] Abelin: Biochem. Z. **286**, 160 (1936).

b) Aufhebung der novocainantagonistischen Thyroxinwirkung im Winter durch einen neuen Wirkstoff der Schilddrüse.

Bei der Darstellung dieses Wirkstoffs folgten wir im wesentlichen den Vorschriften von Romeis[6] und Harrington[7] zur Isolierung des Thyroxins und gingen folgendermaßen vor: Im Vakuum getrocknetes Pulver von Rinderschilddrüsen wird mit 10 % $Ba(OH)_2 + 8\,H_2O$ (Merck) 6 Stunden hydrolysiert, filtriert, das Filtrat mit HCl gefällt (Niederschlag A), der unlösliche Teil wird durch Waschen mit HCl vom Ba befreit, getrocknet und mit Äther extrahiert (Niederschlag B). A und B werden vereint und mit 40 % $Ba(OH)_2 + 8\,H_2O$ 18 Stunden hydrolysiert und filtriert, das Filtrat mit HCl gefällt (Niederschlag C). Die unlöslichen Ba-Salze werden durch Kochen mit alkalischer Na_2SO_4-Lösung von 10 % vom Ba vollständig befreit (also bis das Filtrat mit dem alkalischen Na_2SO_4 keinen Niederschlag mehr gibt) und filtriert (Filtrat A). Säureniederschlag C wird in n/1 NaOH gelöst und mit Filtrat A vereint. Diese alkalischen Lösungen werden nun mit H_2SO_4 auf p_H 5 gebracht und 2×24 Stunden im Eisschrank stehengelassen. Der gebildete weiße Niederschlag, der das Thyroxin enthält, wird abfiltriert, das Filtrat mit abs. Alkohol (96 %) gefällt und der Alkohol im Vakuum abdestilliert. Nach Entfernung des Alkohols entsteht ein Niederschlag, der durch Zusatz von n/1 NaOH in Lösung geht. Die schwach alkalische, leicht opaleszierende Lösung wird auf das gewünschte Volumen eingedampft, mit 0,3 % Trikresol versetzt und in sterile Phiolen abgefüllt.

Zu den jetzt mitzuteilenden Versuchen, die wir an rd. Meerschweinchen ausführten, verwendeten wir eine Lösung, welche je ccm 1 g frischer Drüse entsprach. Die Tiere erhielten

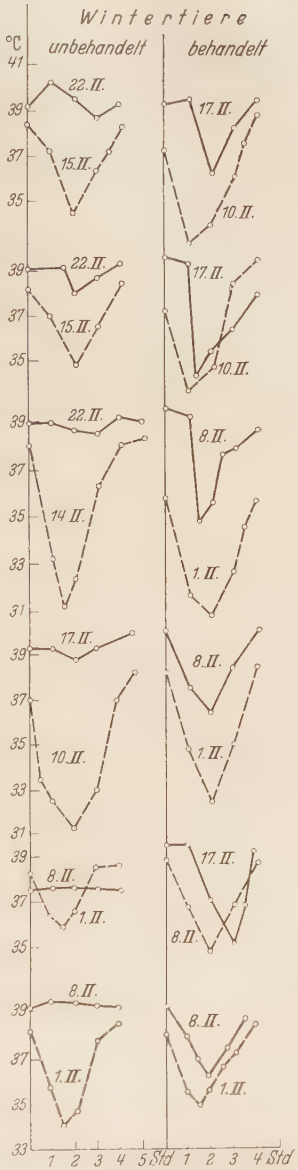


Abb. 3. Verhinderung der novocainantagonistischen Thyroxinwirkung im Winter durch Vorbehandlung mit dem neuen Schilddrüsenwirkstoff Thermothyrin.
— — — — Novocainwirkung vor 3 × 0,3 Thyroxin,
— — Novocainwirkung nach 3 × 0,3 Thyroxin.

[6] Romeis, Benno: Biochem. Z. **133**, 97 (1922). — [7] Harrington, C. R.: Chemistry of the iodine compounds of the thyreoid. Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe Bd. II, S. 103 (1939).

davon 3 Tage vor und 3 Tage während der Thyroxinbehandlung je 1 ccm. In Abb. 3 sehen wir in der ersten Säule die Wirkung von Thyroxin an unbehandelten, in der zweiten an vorbehandelten Tieren.

Die Versuche zeigen, daß der neue Schilddrüsenwirkstoff in allen Versuchen die novocainantagonistische Thyroxinwirkung verhinderte und daß mit ihm vorbehandelte Tiere sich genau so verhalten wie nach Eintritt des Frühjahrs.

Es ist uns damit gelungen, aus der Schilddrüse ein wirksames Prinzip darzustellen, welches fähig ist, die im Frühjahr einsetzende thyroxinwidrige Funktion der Schilddrüse an Wintertieren zu ersetzen. Wir wollen ihn im folgenden Thermothyrin nennen.

Im folgenden berichten wir über seine Wirkungen auf die Verbrennungen.

c) Wirkung des Thermothyrins auf die Verbrennungen.

1. Antagonistische Wirkung gegenüber dem Thyroxin.

Zunächst prüften wir, ob es mit dem Thermothyrin gelingt, die oxydationssteigernde Thyroxinwirkung zu antagonisieren?

Nach unseren Erfahrungen von vielen Jahren läßt sich die oxydationssteigernde Thyroxinwirkung am sichersten an der Kaninchenleber nachweisen. Wie zuerst Dresel[8] zeigte, führt Vorbehandlung mit Thyroxin zu einer Steigerung des O_2-Verbrauchs in den isolierten Leberzellen. Wir verwenden diese Erfahrung zum Nachweis der Thyroxinwirkung in der Weise, daß wir an ein und demselben Tier vor der Thyroxineinspritzung und 24 Stunden später kleine Leberstückchen entnehmen – wie wir es in einer früheren Arbeit schon beschrieben haben[9] — und ihren O_2-Verbrauch nach Warburg bestimmen. Dieser Thyroxintest läßt fast niemals im Stich und ist auch keinen jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen, wenn man genügend große Dosen verwendet. Wir geben intravenös je Kaninchen 1 mg Thyroxin.

In der folgenden Tabelle 1 zeigen wir diese Wirkung des Thyroxins an normalen und mit Thermothyrin behandelten Kaninchen. Das Thermothyrin verabreichten wir intravenös 1 Stunde vor der zweiten Leberentnahme, also 23 Stunden nach dem Thyroxin, um zu sehen, ob es die bereits entwickelte Thyroxinwirkung antagonisiert?

In zwei Versuchen sind wir so vorgegangen, daß wir — um uns auch von der Wirksamkeit des Thyroxins zu überzeugen — 24 Stunden nach der Thyroxininjektion die zweite Leberentnahme ausführten, dann das Thermothyrin einspritzten und 1 Stunde nachher die Leberentnahme wiederholten.

[8] Dresel, K.: Klin. Wschr. **1928**, S. 504. — [9] Mansfeld, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 234 (1939).

Tabelle 1.

Versuch Nr.	cmm O_2-Verbrauch je g Leber und Stunde		
	vor Thyroxin	24 Std. nach 1 mg Thyroxin	Differenz %
1	569	742	+ 30
2	541	752	+ 39
3	550	684	+ 24
4	595	720	+ 21
5	508	723	+ 42
6	489	607	+ 24
	1 Std. vor der zweiten Leberentnahme Thermothyrin intravenös		
7	566	639	+ 13
8	662	705	+ 6
9	695	752	+ 8
10	604	639	+ 6
11	476	519	+ 8
12	689	653	− 5

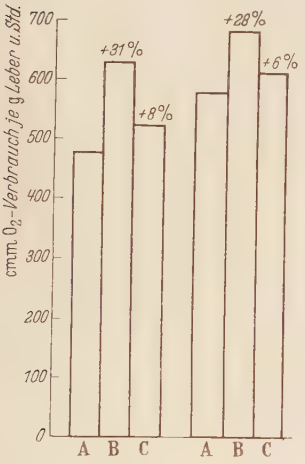


Abb. 4. Vernichtung der oxidationssteigernden Thyroxinwirkung in der Leber durch Thermothyrin.
A = Normaler O_2-Verbrauch der Leberzellen,
B = 24 Std. nach 1 mg Thyroxin,
C = 1 Std. nach Thermothyrin.

Diese Versuche, die wir in Abb. 4 darstellen, zeigen besonders schön, daß das Thermothyrin innerhalb 1 Stunde die Thyroxinwirkung zum Schwinden bringt.

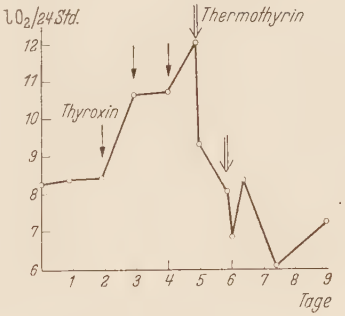


Abb. 5. Thyroxinwidrige Wirkung des Thermothyrins an der Ratte (3 × 0,3 mg Thyroxin, 2 × 2 ccm Thermothyrin).

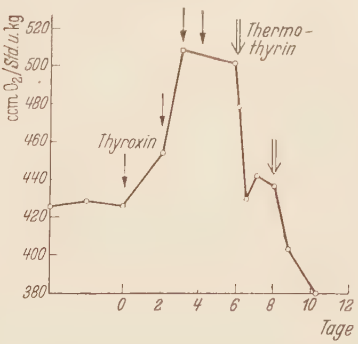


Abb. 6. Thyroxinwidrige Wirkung des Thermothyrins am schilddrüsenlosen Hund (4 × 5 mg Thyroxin; 2 × 5 ccm Thermothyrin).

Im folgenden prüften wir die thyroxinantagonistische Wirkung an weißen Ratten und Hunden, denen wir durch Thyroxinzufuhr den O_2-Verbrauch in die Höhe trieben.

Die Rattenversuche wurden mit dem Apparat von Belák und Illényi[10] ausgeführt, der O_2-Verbrauch der Hunde nach Krogh bestimmt.

Das Ergebnis dieser Versuche zeigt Abb. 5 und 6.

Der in Abb. 5 dargestellte Versuch ist an einer Ratte von 330 g ausgeführt. Zufuhr von $3 \cdot 0{,}3$ mg Thyroxin steigerte den O_2-Verbrauch um 41%. Nach Zufuhr von $2 \cdot 2$ ccm Thermothyrin entsprechend 4 g frischer Drüse sank der O_2-Verbrauch um 49% und lag um 28% unter dem Ausgangswert.

Abb. 6 zeigt einen Versuch an einem schilddrüsenlosen Hund von 12 kg, dem wir durch Zufuhr von Thyroxin in 4 Tagen den O_2-Verbrauch um 30% in die Höhe trieben. Zwei Thermothyrininjektionen von je 5 ccm führten zu einem Sturz von 47% und der O_2-Verbrauch blieb etwa 30% unter dem Ausgangswert.

An beiden Tierarten war die Wirkung die gleiche, indem der durch Thyroxin erhöhte O_2-Verbrauch tief unter die Norm sank.

2. Wirkung des Thermothyrins auf den Grundumsatz.

Die Versuche an thyroxinisierten Tieren zeigten, daß das Thermothyrin nicht nur die Thyroxinsteigerung des O_2-Verbrauchs zum Schwinden

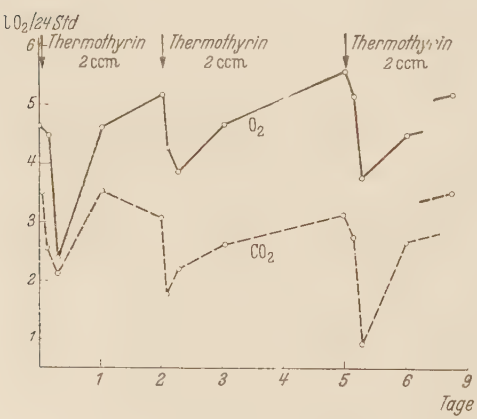


Abb. 7. Wirkung des Thermothyrins auf den Gaswechsel der Ratte.

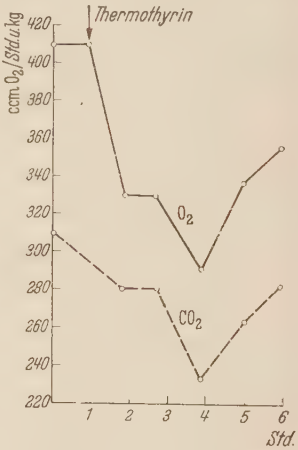


Abb. 8. Wirkung des Thermothyrins auf den Gaswechsel eines curarisierten Hundes.

bringt, sondern bei Anwendung genügend großer Mengen ihn unter die Norm herabsetzt. Dies ließ schon vermuten, daß das Thermothyrin nicht

[10] Belák, S., u. A. Illényi: Biochem. Z. **281**, 27 (1935).

nur als Antagonist des Thyroxins wirkt, sondern auch den Grundumsatz vermindert. Um dies zu prüfen, hatten wir seine Wirkung auf den Gaswechsel an normalen Ratten und im akuten Versuch an curarisierten Hunden geprüft und zeigen das Ergebnis in Abb. 7 und 8.

An beiden Tierarten sehen wir die sehr bedeutende Hemmung der Verbrennungen, die unmittelbar nach der Injektion einsetzt.

d) Identität der Wirkung des Thermothyrins und des Blutserums erwärmter Tiere auf den O_2-Verbrauch isolierter Organe.

Die Ähnlichkeit der Wirkung des Thermothyrins mit jener der Wärmesera auf die Verbrennungen von Hunden und Ratten (siehe vorstehende Mitteilung) ließ vermuten, daß das Thermothyrin und das „Kühlhormon" identisch sind. Um diese Möglichkeit zu prüfen, hatten wir im folgenden untersucht, ob auch die Wirkungen an isolierten Organen die gleichen sind, namentlich ob sie in den gleichen Organen und in gleicher Weise zustande kommen. Wir sahen in den vorstehenden Mitteilungen, daß die Wärmesera auch nach Enteiweißung normalen Tieren injiziert die Verbrennungen im Muskel auch nach seiner Isolierung hemmt. Es frug sich, ob diese Wirkung mit dem Thermothyrin nachzuahmen ist, wobei der zeitliche Eintritt der Wirkung von besonderem Interesse war.

Um dies zu prüfen, hatten wir Kaninchen und Ratten den einen M. Gastrocnemius für die Bestimmung seines O_2-Verbrauchs herausgeschnitten, dann Thermothyrin injiziert und 30 Minuten später den zweiten Gastrocnemius entfernt. In einer zweiten Versuchsreihe hatten wir in gleicher Weise das enteiweißte Serum eines erwärmten Hundes am Rattenmuskel geprüft.

Das Ergebnis ist in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2.

cmm O_2-Verbrauch je g Muskel und Stunde							
Datum 1940	vor	30 Min. nach	Differenz %	Datum 1940	vor	30 Min. nach	Differenz %
	Wärmeserum				Thermothyrin		
12. VI.	258	206	— 20	21. V.	258	209	— 18
12. VI.	249	212	— 15	22. V.	293	211	— 21
26. VI.	226	175	— 22	22. V.	238	186	— 22

Wir sehen, daß das Thermothyrin genau so wie das Wärmeserum 30 Minuten nach Einverleibung den O_2-Verbrauch des Muskels herabsetzt, was für die Identität beider Wirkstoffe spricht.

Eine weitere Identitätsprüfung der Wirkungen war folgende: Wie wir oben sahen, besitzt das Thermothyrin die Fähigkeit, die durch Thyroxin gesteigerten Verbrennungen in der Leber herabzusetzen. Es frug sich, ob auch die Wärmesera dazu fähig sind?

Um dies zu prüfen, gingen wir genau so vor wie in den Versuchen mit Thermothyrin: Nach der zweiten Leberentnahme, also 24 Stunden nach dem Thyroxin, wurde den Kaninchen das Wärmeserum injiziert und 1 Stunde später zum dritten Male Leber entnommen.

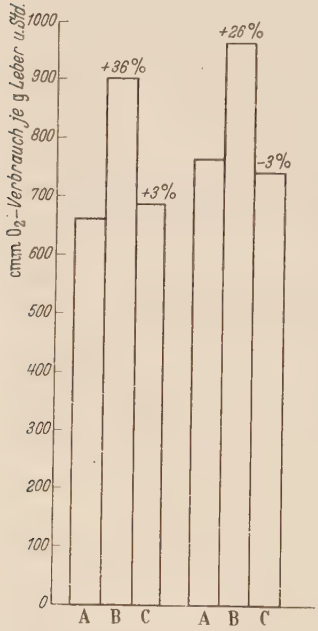


Abb. 9. Vernichtung der oxidationssteigernden Thyroxinwirkung in der Leber durch „Wärmeserum" (vgl. Abb. 4). A = Normaler O_2-Verbrauch der Leberzellen, B = 24 Std. nach 1 mg Thyroxin, C = 1 Std. nach Wärmeserum.

Das Ergebnis haben wir in Abb. 9 dargestellt.

Ein Vergleich der beiden Abb. 9 und 4 zeigt, daß das Thermothyrin sowie das Wärmeserum die voll entwickelte Thyroxinsteigerung der Verbrennungen in der Leberzelle ohne Latenzzeit herabsetzen.

Beide Versuchsreihen ergänzen die am ganzen Tier beobachtete Wirkungsähnlichkeit dadurch, daß sie nicht nur den gleichen zeitlichen Verlauf beider Wirkungen zeigen sondern auch, daß sie ohne Beteiligung des Zentralnervensystems mit peripherem Angriffspunkt in dem gleichen Organ zur Geltung kommen.

Wir glauben daher mit Wahrscheinlichkeit annehmen zu dürfen, daß wir im Thermothyrin jenes Schilddrüsenhormon fanden, welches bei hohen Außentemperaturen an das Blut abgegeben, in den peripheren Organen die Verbrennungen herabsetzt.

e) Isolierung eines zweiten Wirkstoffes aus dem Thermothyrin.

Während unserer noch im Gang befindlichen Arbeit, den physiologisch wirksamen Bestandteil des Thermothyrins von unwirksamen Stoffen zu trennen, ist es uns gelungen, einen zweiten wirksamen Bestandteil aus ihm abzutrennen, worüber wir noch kurz berichten möchten.

Wenn man die bei p_H 5,0 vom Thyroxin befreite und bei schwach alkalischer Reaktion eingeengte Lösung, die wir zu unseren bisher beschriebenen Versuchen verwendeten, mit HCl versetzt, so erhält man einen Niederschlag, der in absolutem Alkohol gut löslich aus diesem auf Alkali-

zusatz in schneeweißen Flocken ausfällt. Dieses weiße Pulver löst sich leicht in wässeriger n/10 NaOH.

Die physiologische Prüfung des vom Säureniederschlag getrennten neutralisierten Filtrats zeigte, daß die Wirkung auf die Verbrennungen durch die Säurefällung keineswegs verloren ging. Als wir den alkoholgereinigten Säureniederschlag an Ratten prüften, zeigte sich, daß auch diese Substanz die Verbrennungen herabsetzt, aber diese Wirkung, wie es scheint, später einsetzt und länger bestehen bleibt.

Wir zeigen die Wirkungsart dieser beiden Stoffe — von denen wir den säurelöslichen Anteil Thermothyrin A, den säureunlöslichen Thermothyrin B nennen — in Abb. 10.

Die Arbeiten zur weiteren Reinigung der Wirkstoffe sowie zu ihrer chemischen Charakterisierung sind im Gange.

Anmerkung bei der Korrektur: Beide Wirkstoffe wurden inzwischen in meinem Institut von Dr. phil. Anna Mansfeld aus den Sommerschilddrüsen von Rindern und Schweinen als kristallinische, im Stoffwechselversuch hochwirksame Reinsubstanzen dargestellt, worüber demnächst ausführlich berichtet wird.

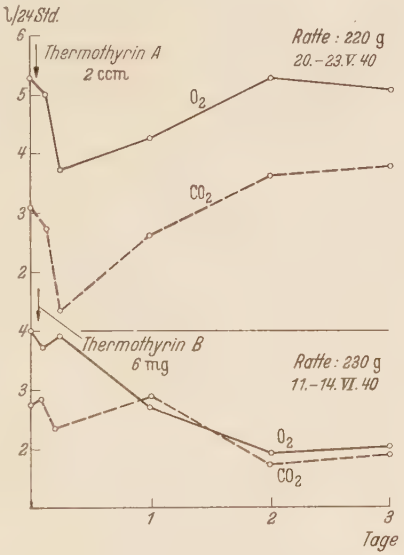


Abb. 10. Wirkung von Thermothyrin A und B auf den Gaswechsel von Ratten.

Zusammenfassung.

1. Durch wiederholte alkalische Hydrolyse und Säurefällung konnte aus der Schilddrüse ein bei p_H 5 lösliches Prinzip dargestellt werden, welches Wintertieren verabreicht, die im Frühjahr einsetzende thyroxinwidrige Tätigkeit der Schilddrüse vollkommen ersetzt, während 3, 5-Dijodthyrosin sowie Jodthyreopepton sich als unwirksam erwiesen.

2. Der neue Wirkstoff — das Thermothyrin — vermag sowohl an isolierten Organen wie an Ratten und Hunden die durch Thyroxin gesetzte Steigerung der Verbrennungen nicht nur aufzuheben, sondern bei geeigneter Dosierung tief unter die Norm herabzusetzen.

3. Auch der unbeeinflußte Ruheumsatz von Ratten und Hunden erfährt durch das Thermothyrin eine Hemmung bis zu 30—50%, die

unmittelbar nach der Injektion einsetzt und ihren Höhepunkt nach 4—5 Stunden erreicht.

4. Die Wirkung des Blutserums erwärmter Tiere kann sowohl an isolierten Organen als auch am ganzen Tier durch Thermothyrin nachgeahmt werden, was mit Wahrscheinlichkeit für seine Identität mit dem ebenfalls aus der Schilddrüse stammenden „Kühlhormon" der Wärmesera spricht.

5. Durch Behandlung mit Säure ließ sich das Thermothyrin in zwei oxydationshemmende Wirkstoffe trennen, von welchen der eine säurelöslich ist (Thermothyrin A), während der andere, das Thermothyrin B, unter p_H 5 ausfällt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs.

Über das Nichtvorhandensein einer zentrenlosen Wärmeregulation.

Von

G. Mansfeld und **Eszter Mészáros.**

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. August 1940.)

Unsere Untersuchungen über die humorale Übertragbarkeit der chemischen Wärmeregulation zeigten[1], daß dieser Vorgang, gleichgültig, ob er durch niedere oder hohe Außentemperaturen bedingt ist, mit dem Entstehen chemischer Stoffe einhergeht, welche fähig sind, in den peripheren Organen auch nach ihrer Abtrennung vom Zentralnervensystem die Verbrennungen im Sinne der chemischen Wärmeregulation (WR.) zu steigern bzw. herabzusetzen. Damit scheint auch die vielumstrittene Frage, ob es eine Wärmebildung ohne sichtbare Muskeltätigkeit — also eine echte chemische WR. im Sinne Rubners[2] — gibt, entschieden, denn wir sahen, daß eine Änderung der Verbrennungen im Muskel durch diese wirksamen Stoffe ohne Beteiligung der Zentren erfolgt.

Eine ganz andere Frage ist — auf die unsere Untersuchungen keine Antwort gaben —, ob die in kalter oder warmer Umgebung produzierten wirksamen Stoffe unter Vermittlung von Wärmezentren entstehen oder ihre Bildung unabhängig von diesen vielleicht durch die veränderte Bluttemperatur unmittelbar aus den sie produzierenden endokrinen Drüsen ausgelöst wird?

Unsere allerersten Versuche, welche die Beteiligung chemischer Stoffe bei der WR. zeigten, hatten ergeben, daß die Bildung solcher wirksamen Stoffe durch mechanische Reizung der Wärmezentren ausgelöst wird, was dafür sprach, daß auch die Kälte und Wärme auf gleichem Wege die hormonalen Mechanismen der WR. in Gang setzt, schlossen aber keineswegs die Möglichkeit aus, daß dies auch ohne zentralnervöse Vermittlung geschehen kann.

Besondere Bedeutung erlangte diese Frage durch die grundlegenden Untersuchungen von R. Thauer[3], der in Anlehnung früherer vereinzelter Beobachtungen von Goltz und Ewald[4] sowie von N. F. Popoff[5] über das Bestehenbleiben vegetativer Funktionen nach Ausschaltung des

[1] Siehe die drei vorangehenden Arbeiten. — [2] Rubner, M.: Die Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung. Kap. 8, S. 129. Leipzig u. Wien 1901. — [3] Thauer, R.: Pflügers Arch. **236**, 102 (1935). — [4] Goltz, F., u. I. R. Ewald: Ebenda **63**, 362 (1896). — [5] Popoff, N. F.: Ebenda **234**, 137 (1934).

Rückenmarks in einer Reihe sorgfältiger Versuche die Wiederkehr der WR. nach Halsmarkdurchtrennung zeigte.

Damit schien die experimentell so gut begründete alte Lehre von der Alleinherrschaft der Wärmezentren über dem Wärmehaushalt ins Schwanken geraten und die Frage trat in den Vordergrund des Interesses, welche peripheren Apparate die Wärmeregulation nach Ausschalten des Nervensystems besorgen.

Nachdem unsere Ergebnisse über die hormonalen Faktoren der WR. sehr wohl in die neue Lehre der peripheren WR. sich einordnen ließen, war zu prüfen, inwiefern die bei der WR. beteiligten endokrinen Drüsen, also Schilddrüse und Hypophyse, nach Ausschalten des Nervensystems in den Wärmehaushalt eingreifen. Vor Durchführung dieses Arbeitsplanes sollten aber vorerst Ausmaß und Bedingungen der peripheren WR. einer Analyse unterworfen werden mit besonderer Rücksicht auf die chemische Wärmeregulation. Über diese Untersuchungen wollen wir im folgenden berichten.

II. Die Temperaturkonstanz nach Halsmarkdurchtrennung und ihre Bedeutung.

Es soll hier nicht auf die Streitfrage eingegangen werden, ob die Halsmarkdurchtrennung allein für eine vollständige Ausschaltung der Wärmezentren genügt, oder ob dazu die Durchtrennung der Vagi und Ausrottung der Sternganglien notwendig ist, wie es Issekutz d. J.[6] meinte, weil einerseits, wie Thauer[7] schon zeigte, die diesbezüglichen Versuche nicht beweisend sind, andererseits weil experimentell gezeigt werden konnte[8], daß die Unterbrechung sämtlicher vagosympathischer Verbindungen zwischen Hirn und Peripherie ohne Einfluß auf die Verbrennungen ist, falls für die Aufrechterhaltung des normalen Blutdrucks gesorgt wird.

Die Frage, die wir prüften, war die, ob Tiere nach Halsmarkdurchtrennung ihre Eigenwärme — wie Thauer[3] zeigte — bewahren und ob dies das Bestehen einer zentrenlosen Wärmeregulation beweist?

Zu diesem Zweck hatten wir, die wertvollen methodischen Ratschläge Thauers[3] befolgend, an Kaninchen das Halsmark in der Höhe von C_6—C_7 durchtrennt und an den überlebenden Tieren, nachdem sie sich im Wärmekasten vom Operationsschock erholten, bei wechselnden Außentemperaturen (AT.) die Innentemperatur (IT.) der Tiere mit Hg-Thermometer im Mastdarm anfangs stündlich, dann zweistündlich gemessen.

Unsere Beobachtungen beziehen sich auf 5 überlebende Halsmarktiere. Ihre Lebensdauer betrug 16, 17, 22, 26 und 60 Tage. Die Sektion erwies, daß das Halsmark an 3 Tieren zwischen C_6—C_7, an 2 Tieren in der Höhe von C_7 durchtrennt war.

[6] Issekutz, jun., B. v.: Pflügers Arch. **238**, 787 (1937). — [7] Thauer, R.: Erg. Physiol. usw. **41**, 708 (1939). — [8] Mansfeld, G., u. F. v. Tynkody: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 633 (1938).

Außer den Halsmarkdurchtrennungen hatten wir zum Vergleich an 4 Kaninchen das Brustmark in der Höhe zwischen Th_1 - Th_3 durchschnitten. Die Lebensdauer betrug: 24, 24, 37 und 60 Tage.

Unsere Beobachtungen über das thermische Verhalten der operierten Tiere brachten eine volle Bestätigung der von Thauer[3] entdeckten Tatsache, daß einige Tage nach der Operation die Halsmarktiere ebenso wie die Brustmarktiere bei Zimmertemperaturen ihre Körperwärme aufrechterhalten, was mit der alten Lehre — nach welcher Halsmarktiere dauernd poikilotherm werden (Freund und Mitarbeiter[9]) im Widerspruch zu stehen schien.

Wird nun eine Analyse der thermischen Fähigkeiten der Tiere ausgeführt, so kann man sich überzeugen — was auch von Thauer[3] betont

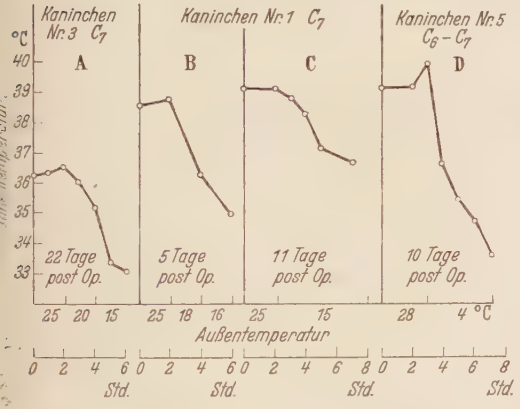


Abb. 1. Temperaturgang von Halsmarktieren bei wechselnder Außentemperatur.

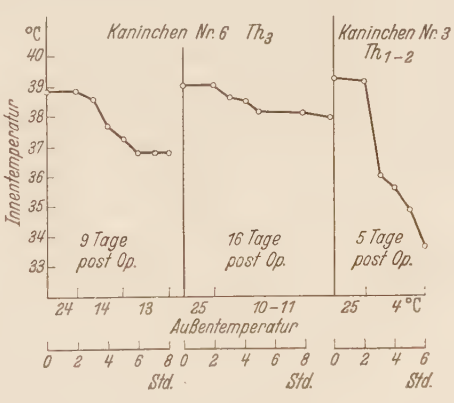


Abb. 2. Temperaturgang von Brustmarktieren bei wechselnder Außentemperatur.

wurde —, daß auch nach vollkommener Erholung der Tiere keineswegs der alte Zustand zurückgekehrt ist, sondern der Temperaturbereich, in welchem die Körpertemperatur erhalten bleibt, kein sehr großer ist.

In der Abb. 1 zeigen wir den Temperaturgang von 3 Halsmarktieren beim Übergang vom geheizten Zimmer ins ungeheizte bzw. in den Kühlraum von + 4° C. Wir sehen, daß schon eine AT. von 15—16° C ein Sinken der Körpertemperatur um 2,5—3,5° C bewirkt und der Aufenthalt bei 4° C in wenigen Stunden einen Temperatursturz von 6° C herbeiführt.

In Abb. 2 bringen wir 3 Versuche, die in gleicher Weise an Brustmarktieren ausgeführt zeigen, was auch Thauer fand, daß im thermischen Verhalten von Brust- und Halsmarktieren höchstens ein quantitativer, aber kein prinzipieller Unterschied besteht, denn bei einer AT. von 4° C sank auch hier die Körpertemperatur (KT.) um 5,5° C.

[9] Freund, H., u. R. Strassmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **69**, 12 (1912); Freund, H., u. E. Grafe: Ebenda **70**, 135 (1912).

Wenn wir also Thauer darin zustimmen, daß die Tiere nach hoher Rückenmarkdurchtrennung keineswegs dauernd poikilotherm werden — ist doch eine Differenz zwischen AT. und KT. von 20° C keine Seltenheit —, müssen wir doch fragen, ob die — wie wir eben sahen — beschränkte Konstanz der KT. Folge einer echten WR. ist oder nur von Vorgängen, die eine solche vortäuschen.

Bei Prüfung dieser Frage wollen wir nicht auf die Verhältnisse der Wärmeabgabe näher eingehen. Schon Goltz und Ewald[4] sahen die auch von Popoff[5] beschriebene Rückkehr des peripheren Gefäßtonus nach Rückenmarkausschaltung, was durch Einschränkung der Wärmeabgabe dem Wärmehaushalt zugute kommt und zweifellos eine allmähliche Besserung der operierten Tiere auf thermischem Gebiete herbeiführt. Wir wissen auch, daß Kälte und Wärme auch entnervte Gefäße verengt bzw. erweitert, so daß diese lokalen Gefäßreaktionen zweifellos als Regulatoren der Wärmeabgabe in Betracht kommen.

Wir richteten vielmehr unsere Aufmerksamkeit auf die Verhältnisse der chemischen WR. Wenn wir dies tun und nach der Wärmebildung an Hals- und Brustmarktieren bei verschiedenen AT. fragen, so müssen wir vor allem bedenken, worauf auch schon von Grafe[10] hingewiesen wurde, daß an Halsmarktieren etwa $^1/_4$ der Körpermuskulatur, und zwar die Muskeln des Halses, des Nackens, des Kopfes und teilweise der vorderen Extremitäten, noch mit dem Zentralnervensystem in Verbindung stehen, so daß es nicht verwunderlich ist, wenn an solchen Tieren — wie es auch von Issekutz jun.[6] gefunden wurde — in kalter Umgebung die Wärmebildung ansteigt.

Diese nach Erholung aus dem Operationsschock wiederkehrenden Funktionen sind sicher dazu geeignet, zur Aufrechterhaltung der KT. beizutragen, ohne daß diese eine zentrenlose WR. beweisen würden. Wollen wir den Beweis für eine solche erbringen, so müssen wir prüfen, ob Einwirkung von Kälte auf die vom Wärmezentrum abgetrennten Körperregionen zu einer Steigerung der Verbrennungen führt?

Dies zu untersuchen war Zweck der folgenden Versuche.

III. O_2-Verbrauch von Hals- und Brustmarktieren nach Abkühlen des Unterkörpers.

Wird an einem normalen — für den Kroghschen Gaswechselversuch abgerichteten Kaninchen der O_2-Verbrauch bestimmt, dann der Unterkörper etwa bis zum Zwerchfell von kleinen Gummisäcken umgeben, welche mit Wasser von 8– 10° C gefüllt sind, so erfolgt eine Steigerung des O_2-Verbrauchs um 70—80%.

Wiederholen wir diesen Versuch an Tieren, denen Hals- oder Brustmark vor längerer Zeit durchschnitten worden ist, so erfolgt in keinem einzigen

[10] Grafe, E.: In Oppenheimers Handb. der Biochemie, II. Aufl., Bd. IX, Hauptteil X, S. 42 (1924).

Fall auch nur spurweise eine Steigerung der Verbrennungen. Wir führten diesen Versuch an allen unseren operierten Tieren wiederholt aus, aber von einer regulatorischen Steigerung der Verbrennungen war weder an Hals- noch an Brustmarktieren etwas zu sehen. Die einzige Änderung war, daß bei genügend langer Kühlung entsprechend der Temperaturerniedrigung eine Abnahme der Verbrennungen zu beobachten war.

Ebensowenig ließen sich die Verbrennungen herabsetzen, wenn wir den Unterkörper einer Temperatur von 40° C aussetzten.

Einige Versuchsbeispiele sind in Abb. 3 dargestellt.

Wenn wir also als chemische Wärmeregulation die regulative Änderung der Verbrennungen bei wechselnder Außentemperatur bezeichnen, so folgt aus diesen Versuchen, daß in dem vom Wärmezentrum abgetrennten Körper eine solche nicht vorhanden ist und die beobachtete Konstanz der Körpertemperatur durch andere Vorgänge bedingt sein muß.

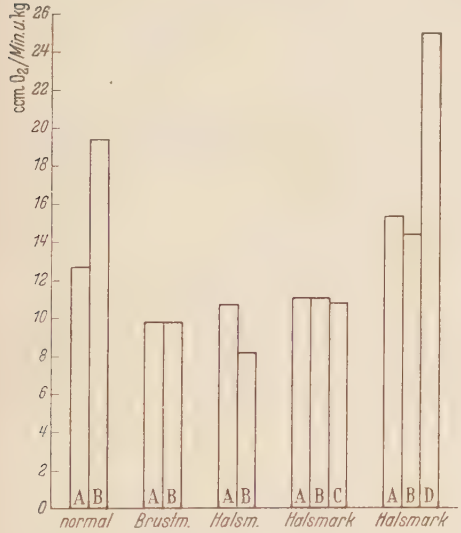


Abb. 3. Fehlen der ehemaligen Wärmeregulation in den vom Wärmezentrum abgetrennten Körperregionen (Kaninchen).
O_2-Verbrauch A bei Zimmertemperatur, B bei Unterkörpertemperatur 8—10° C, C bei Unterkörpertemperatur 40° C, D bei Oberkörpertemperatur 8—10° C.

Abb. 4. Fehlen der chemischen WR. im vom Wärmezentrum abgetrennten Körperteil (Hund).
A = O_2-Verbrauch im Wärmeschrank bei 28° C.
B = O_2-Verbrauch im Wärmeschrank bei 28° C, aber Unterkörper 8° C.
C = Der ganze Körper bei 18° C.

Wir haben, um dieses Ergebnis noch weiter zu sichern, diese Versuche auch auf Hunde ausgedehnt, an welchen besonders eindrucksvoll dieses Nichtvorhandensein einer zentrenlosen WR. gezeigt werden kann.

Bei C_7 halsmarkdurchschnittenen Hunden wird nach ihrer Erholung im Wärmekasten bei 28° C der O_2-Verbrauch nach Krogh bestimmt, dann der Unterkörper mit Kühlflaschen und Gummisäcken einer Temperatur von 8° C ausgesetzt. Es erfolgt keine Spur einer gesteigerten Wärmebildung. Wird nun die Kühlung des Unterkörpers unterbrochen, das Tier aus dem Wärmekasten gehoben und der Gaswechsel bei einer AT. von

15—18° C bestimmt, so erfolgt ein beträchtlicher Anstieg des O_2-Verbrauchs als Ausdruck für eine sehr wirksame chemische WR. im nicht entnervten Körperteil.

Wir zeigen ein Versuchsbeispiel dafür in Abb. 4.

Mit diesen Versuchen fällt auch die Lehre, nach welcher an Brustmarktieren im Gegensatz zu Halsmarktieren die chemische WR. erhalten ist (Freund und Strassmann[9]) und der wahre Unterschied zwischen Hals- und Brustmarktieren konnte, wie wir sehen werden, in ganz anderen Umständen gefunden werden.

Sehr bemerkenswert erscheint uns auch die Tatsache, daß eine gesteigerte Wärmebildung auch dann nicht eintrat, wenn die Bluttemperatur unter die Norm sank. Wir beobachteten nicht selten ein allmähliches Absinken der KT. bis 34° C, während dem wir den O_2-Verbrauch fortlaufend bestimmten, ohne daß auch nur vorübergehend eine regulatorische Steigerung der Verbrennungen eingetreten wäre.

Daraus geht hervor, daß nicht nur die Abkühlung der Haut, sondern auch das Sinken der Bluttemperatur nur dann die Wärmebildung steigert (Barbour[11], Gollwitzer-Meier[12]), wenn die Zentren mit der Peripherie nervös verbunden sind. Diese Feststellung scheint uns von Wichtigkeit für das Verständnis der Wirkung von hormonalen Faktoren bei der WR.

Nachdem wir wissen, daß die WR. mit der Produktion von thermisch wirksamen chemischen Stoffen einhergeht, mußte daran gedacht werden, daß am zentrenlosen Tier die niedere oder hohe Bluttemperatur unmittelbar in den endokrinen Drüsen die Produktion dieser in Gang setzt, was in der Tat eine zentrenlose chemische WR. sichern würde. Wir sehen aber, daß dies nicht der Fall ist und die Bildung von Hormonen, sei sie durch die veränderte Blut- oder Außentemperatur ausgelöst, nur unter der Herrschaft von Zentren geschieht. Dieser Befund steht im Einklang mit unseren alten Versuchen[13], in welchen wir fanden, daß die mechanische Reizung der Wärmezentren ebenso zur Bildung wirksamer Stoffe führt wie die Regulation gegen Kälte und Wärme (G. Mansfeld und L. v. Pap[14]).

Nachdem diese Versuche zeigten, daß in dem vom Wärmezentrum abgetrennten Körperteil eine chemische WR. vermißt wird, mußte untersucht werden, welche Faktoren für die thermischen Fähigkeiten nach hoher Rückenmarkdurchtrennung verantwortlich sind?

IV. Bedeutung der Nahrungsaufnahme für Körperwärme und O_2-Verbrauch der Hals- und Brustmarktiere.

Als wir daran gingen, den O_2-Verbrauch unserer Halsmarktiere zu bestimmen und wie wir es an normalen Tieren gewohnt sind, durch

[11] Barbour, H. G: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **70**, 1 (1912). — [12] Gollwitzer-Meier, Kl.: Klin. Wschr. **1937**, II, S. 1418. — [13] Mansfeld, G.: Zbl. Physiol. **27**, 267 (1913); Pflügers Arch. **161**, 430 (1915). — [14] Mansfeld, G., u. L. v. Pap: Ebenda **184**, 281 (1920).

einen Nahrungsentzug von 24 Stunden den Ruheumsatz sichern wollten, fanden wir zu unserer Überraschung, daß nach einer 24stündigen Karenz die ganze sogenannte periphere WR. in die Brüche ging und die Tiere bei einer Zimmertemperatur von 20—23° C einen Temperatursturz bis zu 28° C erlitten, was bekanntlich die untere Temperaturgrenze für das Leben der Warmblüter darstellt.

Diese Wirkung des Fastens beobachteten wir ausnahmslos an allen unseren Halsmarktieren und sie war unabhängig von der seit der Operation verflossenen Zeit. Als wir zum Vergleich die Folgen des Nahrungsentzuges an Brustmarktieren prüften, so sahen wir, daß diese sich ganz anders verhalten, denn 24stündiges Fasten hatte keinen wesentlichen Einfluß auf die Körperwärme. Wir zeigen das verschiedene Verhalten der hungernden Hals- und Brustmarktiere in Abb. 5, während wir in Abb. 6 an einem Versuchsbei-

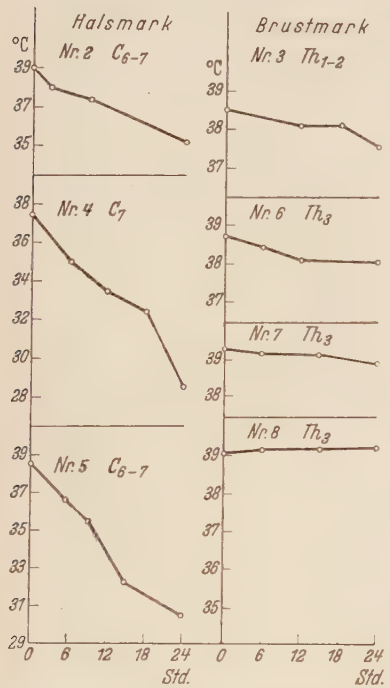


Abb. 5. Wirkung 24stündiger Karenz auf die Körpertemperatur von Hals- und Brustmarkkaninchen.

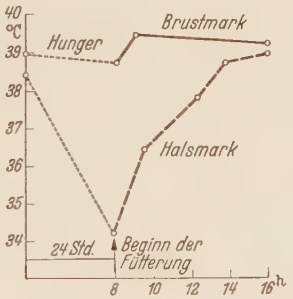


Abb. 6. Wirkung der Nahrungsaufnahme auf die Körpertemperatur von Hals- und Brustmarkkaninchen.

spiel den Temperaturgang eines Halsmarktieres nach Wiederaufnahme der Fütterung zeigen.

Es zeigte sich also, daß die beobachtete Temperaturkonstanz von Halsmarktieren, welche als Ausdruck einer zentrenlosen WR. aufgefaßt wurde, einzig und allein durch die Nahrungsaufnahme bedingt ist und schon die Karenz von 24 Stunden ein Sinken der KT. bis zur untersten Lebensgrenze herbeiführt.

Daß Nahrungsaufnahme bei Halsmarktieren zu einem Anstieg der KT. führt, wurde schon von Freund und Strassmann[9] beobachtet

und von R. Thauer[3] bestätigt. Eine wie hohe prinzipielle Bedeutung diesem Verhalten der Halsmarktiere zukommt — und nicht nur, wie Thauer[3] meint, „durch das Versagen gegenregulatorischer Mechanismen bei der durch Fütterung bedingten stärkeren Wärmebildung" hervorgerufen wird, werden wir gleich sehen bei der Mitteilung unserer Versuche über die Wärmebildung nach Nahrungsaufnahme. Vorerst möchten wir nur noch darauf hinweisen, ein wie mächtiger Unterschied zwischen normalen und Halsmarktieren in dieser Hinsicht besteht.

Robert C. Lee[15] hatte kürzlich an normalen Kaninchen den Einfluß der Nahrungsaufnahme auf die KT. mit dem Ergebnis geprüft, daß das Fasten bis zu 3 Wochen bei verschiedenen Umgebungstemperaturen auf die Rektaltemperatur ohne wesentlichen Einfluß blieb. Somit erschien uns dieser vollständige Verlust der thermischen Widerstandskraft der Halsmarktiere schon nach einer Karenz von 24 Stunden als Folge einer nicht nur quantitativen, sondern tiefgreifenden prinzipiellen Differenz im Stoffwechselgeschehen von normalen und Halsmarktieren, was eine weitere Klärung erforderte.

Eine genaue und dauernde Beobachtung unserer Halsmarktiere — wir hielten sie zu diesem Zweck ständig im Laboratorium — zeigte bald, daß die Tiere ungeheure Mengen von Futter mit einer bei Kaninchen ganz ungewohnten Gier verzehren. Die vertilgten Mengen festzustellen ist nicht ganz leicht, denn wenn man ihnen das Erreichen des Futters so erleichtert, daß sie es ohne Mühe in liegender Stellung zu sich nehmen können, so hören sie überhaupt nicht auf zu fressen. Wir haben nicht selten beobachtet, daß unsere Tiere auf diese Weise innerhalb $^1/_2$ Stunde 80—100 g Hafer fraßen und nach Aufhören der Fütterung sie mit großer Gier das Heu, auf welchem sie lagen, weiteraßen. Nur noch bei einer Art von Tieren haben wir eine ähnliche Freßlust beobachtet und zwar bei Tieren mit einer Oesaphagusfistel nach Pavlov bei Ausführung der Scheinfütterung. Daß die Ursache in beiden Fällen eine sehr ähnliche ist, werden wir später sehen.

Daß wahrscheinlich auch die Halsmarktiere von Thauer[3] eine ähnlich große Freßlust hatten, vermuten wir aus dem Umstand, daß von seinen 9 Halsmarktieren 5 an Magenperforation eingingen, die, wie er mitteilt, „immer in der Nähe der großen Kurvatur lagen und nach Größe und Umrandung pathogenetisch nicht auf Ulcerationen zurückgeführt werden konnten" (l. c. S. 132). Auch wir verloren anfangs 2 Tiere an Magenruptur, bis wir die Ursache erkannt haben und das Tagesfutter in 3—4 Portionen ihnen reichten.

Im krassen Gegensatz zu dieser lebhaften Freßlust und den verzehrten ungeheuren Futtermengen stand die Tatsache, daß die Tiere einen unaufhaltsamen Gewichtsverlust zeigten, so daß wir die von Thauer[3] beob-

[15] Lee, Robert C.: The rectal temp. of the normal rabit. Amer. J. of Physiol. **125**, 521 (1939).

achteten Gewichtsverluste von über 50% voll bestätigen können. Schon die einfache Betrachtung der Tiere verriet, daß alle Reserven sehr bald aufgebraucht werden und bei der Sektion findet man auch immer eine Abmagerung bis auf Haut und Knochen, eine sehr dürftige Muskulatur und ein vollständiges Fehlen von Fett auch in den inneren Organen. Diese kachexieähnliche Abmagerung, die auch von Thauer erwähnt wird, gepaart mit der beispiellosen Freßlust der Tiere, deutet darauf hin, daß nach der Halsmarkdurchtrennung die Fähigkeit verloren geht, die Nahrungsstoffe zu speichern und somit die ganze Nahrung restlos verbrannt wird. Dies steht im Einklang damit, daß Nahrungszufuhr, so wie wir sahen, sofort zu einem Anstieg der KT. und Nahrungsentzug zum Temperatursturz führt. Im folgenden sollte dies durch Bestimmung des O_2-Verbrauchs an normalen sowie an Brust- und Halsmarktieren geprüft werden.

Die Halsmarktiere, die während des Hungers, wie wir sahen, bei Zimmertemperatur abkühlen, kamen vor dem Versuch in den Wärmeschrank und auch während der Bestimmung wurden sie vor Wärmeverlust geschützt, so daß ihre Temperatur nicht unter 38° C sank.

Die Ergebnisse stellen wir in Tabelle 1 zusammen.

Tabelle 1. Wirkung des Hungers auf den O_2-Verbrauch.

Datum	Kaninchen Nr.	Dauer der Karenz Std.	ccm O_2-Verbrauch je kg/Min.		Differenz %	Tage nach der Operation
			Hunger	ernährt		
		A. Normale Kaninchen.				
12. VII. 1939	17	24	8,9	9,4	+ 6	—
5. X. 1939	23	24	7,2	7,7	+ 7	—
6. VI. 1940	9	24	11,2	12,1	+ 8	
		B. Brustmark-Kaninchen.				
11. VII. 1939	31	27	10,8	10,0	— 8	16
20. X. 1939	6	26	13,0	13,8	+ 6	7
13. I. 1940	7	24	9,8	9,4	— 4	9
18. I. 1940	8	24	11,0	11,7	+ 6	8
13. VI. 1940	9	24	10,2	9,9	— 3	5
		C. Halsmark-Kaninchen.				
22. V. 1939	4	13	6,9	11,1	+ 60	24
3. VI. 1939	1	14	7,9	10,9	+ 38	45
4. VII. 1939	2	20	9,1	15,4	+ 69	14
23. IX. 1939	5	24	10,8	16,1	+ 49	8
29. IX. 1939	5	26	8,7	12,5	+ 43	14

Während also an normalen und Brustmarktieren eine Karenz von 24—27 Stunden die Wärmebildung innerhalb der Fehlergrenze unverändert läßt, sehen wir an den Halsmarktieren eine Differenz bis zu 69% und zwar auch schon nach einer Karenz von 13—14 Stunden.

Sehr bemerkenswert ist es, daß nicht die Hungerwerte abnorm niedrig sind — diese unterscheiden sich nur unwesentlich von den

normalen —, sondern die Werte nach der Fütterung sind ungewöhnlich hohe als Ausdruck, daß die Verbrennung der Nahrung zügellos von statten geht.

Dieses Versuchsergebnis brachte also die Klärung des Wärmehaushalts nach Halsmarkdurchtrennung: Es ist keine Spur mehr einer gekoppelten Reaktion zwischen Wärmebildung und Abgabe. Die Verbindung zwischen Ventilation und Heizvorrichtung — die den normalen Wärmehaushalt kennzeichnet — ist dauernd unterbrochen. Der vom Wärmezentrum abgetrennte Körper gleicht einem durch einen Füllofen geheizten Zimmer. Solange das Brennmaterial genügt, ist die Zimmertemperatur eine hohe — selbst wenn das Fenster ein wenig geöffnet wird. Wenn aber der Ofen nicht nachgefüllt wird, brennt er ab und das Zimmer kühlt aus, weil ein automatisches Nachfüllen wegen Mangel an Reserven unmöglich geworden ist.

Die Körpertemperatur der Halsmarktiere ist Funktion der aufgenommenen Nahrung, welche — wegen verlorengegangener Fähigkeit, Reserven zu stapeln — restlos verbrannt wird.

Interessant scheint es uns, daß die Unfähigkeit, Reserven aufzustapeln, mit einer maximalen Freßlust Hand in Hand geht, denn dies spricht dafür, daß nicht die Versorgung der Zellen mit Brennmaterial den Hunger stillt, sondern das Anfüllen der Speicher, wie man es für das Glykogendepot längst vermutet.

Eine weitere, für die Stoffwechsellehre sehr wichtige Aufgabe wird es sein die näheren Bedingungen dieser, zufolge Halsmarkdurchtrennung verlorengegangenen Speicherfähigkeit des Organismus zu ergründen.

V. Wärmehaushalt der Brustmarktiere.

Wir sahen, daß während eine chemische WR. auch bei den Brustmarktieren vermißt wird, diese trotz Nahrungsentzug ihre KT. bewahren. Es mußte gefragt werden, auf welche Weise bei diesen die beobachtete Konstanz der KT. gesichert wird.

Es ist schon von mehreren Autoren, so zuletzt von Oberdisse[16], die Beobachtung gemacht worden, daß Tiere mit durchtrenntem Brustmark einen sehr hohen O_2-Verbrauch aufweisen, was darauf zurückgeführt wurde, daß der gesteigerte Wärmeverlust eine gesteigerte Wärmebildung zur Folge hat (Freund und Grafe[9]). Zu dieser Erklärung steht aber im Gegensatz unsere Feststellung, wonach auch das Brustmarktier unfähig ist, den gesteigerten Wärmeverlust im zentrenlosen Körperteil zu kompensieren. Es mußte also einmal geprüft werden, ob die Durchtrennung des Brustmarks in der Tat die Verbrennungen steigert und wenn dies der Fall ist, wodurch diese Steigerung der Wärmebildung bedingt ist.

[16] Oberdisse, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 150 (1931).

Die Bestimmung des O_2-Verbrauchs und zwar an ein und demselben Tier vor und nach hoher Rückenmarkdurchtrennung brachte die Klärung der Verhältnisse, indem wir die interessante Tatsache feststellen konnten, daß während die Durchtrennung des Halsmarks die Verbrennungen unverändert läßt, an Brustmarktieren der O_2-Verbrauch sehr bedeutend in die Höhe schnellt und dauernd hoch bleibt.

Wir zeigen diese Verhältnisse in Abb. 7.

Dies steht im Einklang damit, daß, wie wir in Tabelle 1 schon sahen, der O_2-Verbrauch der Brustmarktiere im Mittel um 20% höher lag als an normalen und Halsmarktieren.

Nach der Ursache dieser gesteigerten Wärmebildung suchend, fiel unser Verdacht auf die Schilddrüse und so prüften wir, wie sich der O_2-Ver-

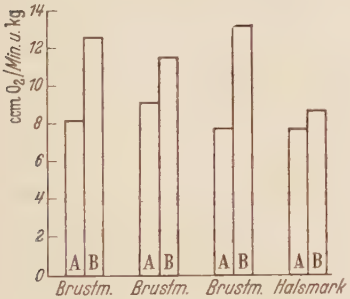


Abb. 7. Wirkung der Hals- bzw. der Brustmarkdurchtrennung auf den Grundumsatz von Kaninchen.
A = O_2-Verbrauch vor Rückenmarkdurchtrennung,
B = O_2-Verbrauch nach Rückenmarkdurchtrennung.

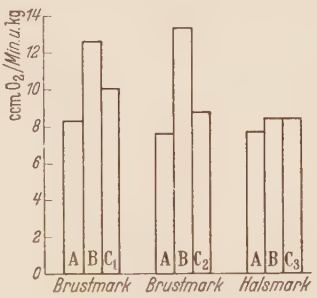


Abb. 8. Wirkung der Thyrektomie an Hals- und Brustmarkkaninchen.
A = O_1-Verb auch vor Rückenmarkdurchtrennung,
B = O_2-Verbrauch nach Rückenmarkdurchtrennung,
C_1 = O_2-Verbrauch 9 Tage nach Thyrektomie,
C_2 = O_2-Verbrauch 27 Tage nach Thyrektomie,
C_3 = O_2-Verbrauch 16 Tage nach Thyrektomie.

brauch gestaltet, wenn wir vergleichend Halsmark- und Brustmarktieren die Schilddrüse entfernen.

Es zeigte sich, daß, während nach Halsmarkdurchschneidung die Entfernung der Schilddrüse ohne Wirkung auf die Verbrennungen war, an den Brustmarktieren ein allmähliches Sinken des O_2-Verbrauchs stattfindet, was wohl mit dem bekannten langsamen Abklingen der Thyroxinwirkung erklärt werden kann und in den Versuchen Isenschmids[17] verborgen bleiben mußte.

Wir bringen einige Versuchsbeispiele in Abb. 8 zur Darstellung.

[17] Isenschmid, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **98**, 221 (1923).

Es zeigte sich also, daß der zwischen Halsmark- und Brustmarktieren schon beschriebene Unterschied doch ein prinzipieller ist, denn während ein Schnitt über Th_1 die ganze Tätigkeit der Schilddrüse, wahrscheinlich durch Unterbrechungen seiner Innervation, ausschaltet, die Läsion unterhalb dieser Grenze wie es scheint, die fördernden Fasern intakt läßt und, nur die hemmenden unterbricht, wodurch es zu einer ungehemmten Thyroxinwirkung kommen muß*.

Nur so läßt sich die Tatsache erklären, daß nach Brustmarkdurchtrennung nicht etwa durch niedrige At., also regulatorisch bedingt, sondern, wie wir sahen, von At. und Bluttemperatur unabhängig eine dauernde Steigerung der Wärmebildung einsetzt und erst durch Exstirpation der Schilddrüse beseitigt werden kann, während die Schilddrüsenentfernung nach Halsmarkdurchtrennung die Verbrennungen unverändert läßt.

Eine Untersuchung der thermischen Fähigkeiten solcher schilddrüsenlosen Brustmarktiere zeigte, was ohnehin zu erwarten war, daß sie den Halsmarktieren immer noch überlegen bleiben und zwar deshalb, weil ja die innervierte Muskulatur des Oberkörpers wesentlich mehr (etwa $^1/_3$ der ganzen Muskulatur) ausmacht als am Halsmarktier, weiterhin, weil die Ohren der Brustmarktiere, dieses wichtige Organ der Wärmeabgabe bei Kaninchen mit dem Zentrum in Verbindung bleiben. Daß aber die thermische Fähigkeit der Brustmarktiere nach Schilddrüsenentfernung wesentlich abnimmt, das haben unsere diesbezüglichen Versuche deutlich gezeigt, was deshalb sehr beweisend für die Rolle der Schilddrüse ist, weil, wie es von Thauer in schönen Versuchen gezeigt worden ist, der thermische Zustand der operierten Tiere sonst mit der Zeit fortschreitend sich bessert.

In Abb. 9 bringen wir ein Versuchsbeispiel, in welchem das Brustmarktier bei einer Änderung der At. von 25—8° C einen Temperatursturz von 2,5° C erlitt, während 8 bzw. 11 Tage später nach der Schilddrüsenentfernung schon eine At. von 12° C die KT. um 3,5° C senkte.

Während also am Halsmarktier die restlose Verbrennung der verzehrten Nahrungsstoffe die Wärmeproduktion soweit erhöht, daß der Organismus unter gemäßigten thermischen Außenbedingungen seine Körpertemperatur bewahrt, wird dies am Brustmarktier dadurch erreicht, daß die ungehemmte Schilddrüsenfunktion zu einer dauernden, von der At. unabhängigen Steigerung der Verbrennungen führt.

* Wenn wir von fördernden und hemmenden Fasern sprechen, so denken wir nicht an eine die Thyroxinproduktion hemmende Funktion, denn die histologische Prüfung der Schilddrüsen, die wir Brustmarktieren entnommen haben, ließen keine gesteigerte Tätigkeit erkennen. Wir denken vielmehr daran, daß nach Brustmarkdurchtrennung die zentralen Impulse für die Produktion jener Thyroxinantagonisten ausfallen, über die in den vorangehenden Mitteilungen berichtet wurde. Die Versuche zur Klärung dieser Verhältnisse sind im Gange.

Das sind jene Vorgänge, welche bei einfacher Beobachtung der thermischen Fähigkeiten von rückenmarkdurchtrennten Tieren eine zentrenlose WR. vortäuschten.

Wenn nun unsere Untersuchungen durch Prüfung der Wärmebildung eine weitere Klärung der Verhältnisse brachten, so sind sie nur eine Ergänzung der grundlegenden Versuche R. Thauers und es bleibt das unvergängliche Verdienst dieses Forschers, durch seine Untersuchungen die Grundlagen für weitere Forschung niedergelegt zu haben.

Die künftige Forschung wird in erster Reihe ihr Augenmerk auf jene Befunde zu richten haben, welche einerseits darauf schließen lassen, daß die Fähigkeit einer Speicherung von Reservestoffen zentral bedingt ist und nach Halsmarkdurchtrennung verloren geht, andererseits, daß die

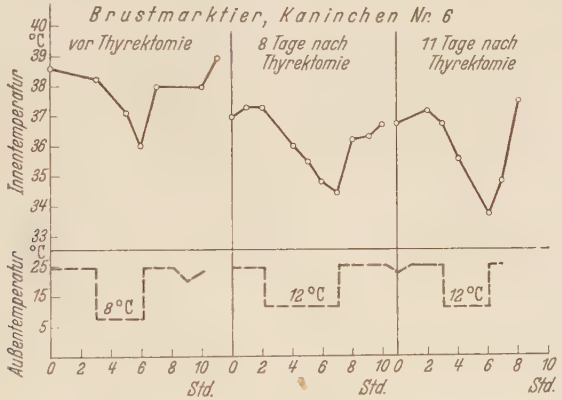


Abb. 9. Fortschreitende Abnahme der thermischen Fähigkeiten am Brustmarkkaninchen nach Thyrektomie.

Schilddrüse, wie es scheint, ihre Impulse — und zwar verbrennungsfördernde sowie hemmende — nur auf nervösem Wege von den Zentren erhält, denn nach ihrer völligen Abtrennung von diesen durch Halsmarkdurchtrennung geht ihre Fähigkeit, Verbrennungsvorgänge zu beeinflussen, verloren.

Zusammenfassung.

Es wurde durch Temperaturmessungen sowie Gaswechselversuche geprüft, ob die von Thauer beobachtete und von uns bestätigte Wiederkehr gewisser thermischer Fähigkeiten nach hoher Rückenmarkdurchtrennung durch eine von Wärmezentren unabhängige Wärmeregulation bedingt ist.

Die Versuche ergaben folgendes:

1. Abkühlung sowie Erwärmung der vom Wärmezentrum abgetrennten Körperregionen führten weder an Hals- noch an Brustmarktieren (Kaninchen und Hunden) zu einer regulativen Änderung der Wärmebildung

auch dann nicht, wenn im Abkühlungsversuch die Bluttemperatur bis 34° C gesunken ist, was die Existenz einer vom Zentrum unabhängigen Wärmeregulation ausschließt.

2. Die Abkühlung von Körperteilen, die mit den Zentren in Verbindung blieben, führt zu einer Steigerung der Wärmebildung.

3. Wird den Halsmarktieren die Nahrung nur für 24 Stunden entzogen, so erfolgt selbst bei Zimmertemperaturen von 20—23° C ein Sinken der Körpertemperatur bis zur untersten Lebensgrenze (28° C), während Nahrungszufuhr in wenigen Stunden zum Anstieg der Körpertemperatur bis zur Norm führt, weil, wie Beobachtung und Gaswechselversuche zeigten, Halsmarktiere, der Fähigkeit beraubt, aus der Nahrung Reserven zu speichern, diese restlos verbrennen, so daß Nahrungsaufnahme an ihnen im Gegensatz zu normalen und Brustmarktieren die Verbrennungen bis zu 69% in die Höhe treibt, wodurch im thermometrischen Versuch am gefütterten Tier eine zentrenlose Wärmeregulation vorgetäuscht wird.

4. Brustmarktiere unterscheiden sich von den Halsmarktieren grundsätzlich darin, daß sie trotz Nahrungsentzug ihre Körperwärme bewahren und daß Nahrungszufuhr keine Steigerung der Verbrennungen bewirkt.

5. Die Prüfung ihres Wärmehaushalts ergab, daß die Läsion unterhalb Th_1 eine mächtige Steigerung der Verbrennungen bewirkt, welche unabhängig vom Wärmeverlust, nicht regulatorisch bedingt ist und durch Thyrcoidektomie beseitigt wird, was darauf schließen läßt, daß, während Durchtrennung des Halsmarks die ganze Schilddrüseninnervation unterbricht, die Brustmarkläsion nur die hemmenden Schilddrüsennerven ausschaltet, so daß eine hemmungslose Thyroxinwirkung die Verbrennungen in die Höhe treibt und das Bestehen einer vom Zentrum unabhängigen Wärmeregulation vortäuscht.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn.
(Direktor: Prof. Dr. Schulemann.)

Zur Biologie und Pathologie des Plasmodium Gallinaceum (Brumpt)*

Von

Dr. phil. **Ludolf Jacobi.**

Mit 2 Textabbildungen (4 Einzelbildern).

(Eingegangen am 1. September 1940.)

Zur Austestung chemotherapeutisch wirksamer Malariaheilmittel hat man sich mit gutem Erfolg verschiedener Arten der Vogelmalaria bedient. Mit den bis jetzt bekannten Malariaheilmitteln vermag man Eintritt und Ablauf des akuten Anfalls zu beeinflussen. Es ist dagegen nicht möglich, im Sinne der kausalen Prophylaxe die Weiterentwicklung von Sporozoiten zu verhindern. Außerdem gelingt es nicht immer, eine Malaria völlig zur Ausheilung zu bringen, man muß also auch nach der besten Behandlung mit Recidiven rechnen. Das brachte schon Grassi[1] später James[1] auf den Gedanken, daß die Sporozoiten sich nach dem Eindringen in den Wirt in besondere, von den Malariamitteln nicht angreifbare Parasitenformen umwandeln, aus denen erst die erythrocytären Malariaparasiten entstehen. Diese besonderen Formen sollen auch die Malariarecidive verursachen.

In den exoerythrocytären, pigmentfreien, in Zellen der Blutgefäßendothelien und in weißen Blutkörperchen parasitierenden Malariaformen glaubt man das Zwischenglied zwischen den Sporozoiten und den erythrocytären Malariaparasiten gefunden zu haben. Diese exoerythrocytären Stadien (im folgenden EE-Stadien genannt) sind beim Menschen erst in wenigen Fällen (Raffaele[2] und Casini[3]) gefunden worden. Von einer Affenmalaria hat Schwetz 1937[4] ähnliche Formen beschrieben. Während die Beobachtungen von EE-Formen bei menschlicher Malaria außerordentlich spärlich sind, hat man bei mehreren Vogelmalariaarten, besonders bei dem Plasmodium gallinaceum Brumpt, die EE-Stadien sehr häufig und in sehr großer Zahl gefunden (Literaturzusammenstellung bei Mudrow 1940[5]). Sie treten bei der Pl. gall.-Infektion des Huhnes regelmäßig auf und verursachen oft den Tod des Wirtes. Scheint dadurch das Pl. gall. als Testobjekt für Medikamente, die gegen derartige Formen wirksam sein

* D 5.

[1] Zitiert nach Mühlens: Malaria in: Ruge-Mühlens-zur Verth, 4. Auflage, S. 59—60. Leipzig 1938. — [2] Raffaele: Riv. Malariol. **16**, 413 (1937). — [3] Casini: Ebenda **18** (1939). — [4] Schwetz: Trans. Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg. **31**, (1937/38). — [5] Mudrow: Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. **44**, H. 6.

könnten, geeignet zu sein, so ist es andererseits noch nicht ganz sicher, daß entsprechende Formen beim Menschen eine große Rolle spielen. Auch die einzelnen Vogelmalariaarten verhalten sich bezüglich der EE-Formen nicht gleich (Kikuth und Mudrow 1938[6] haben dafür einige Beispiele gebracht). Daß sich die EE-Formen des Pl. gall. aus Sporozoiten bilden können, und daß sie nach Sporozoiteninfektion das Zwischenglied zwischen den Sporozoiten und den erythrocytären Formen darstellen, ist von Kikuth und Mudrow[7], sowie von Schulemann und Spies[8], nachgewiesen. Außerdem spielen jedoch die EE-Formen des Pl. gall. bei der akuten Erkrankung des Huhnes eine ebenso große Rolle wie die erythrocytären Formen. Schließlich ist es äußerst wahrscheinlich, daß sie sich nicht nur aus Sporozoiten, sondern auch aus erythrocytären Formen zu entwickeln vermögen.

Um in diesen ganzen Fragen mehr Klarheit zu gewinnen, ist eine möglichst genaue Kenntnis der Biologie des Pl. gall. erwünscht. Dazu wurden in den Jahren 1938 und 1939 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Schulemann im Bonner Pharmakologischen Institut eine größere Anzahl experimenteller Arbeiten ausgeführt, über deren wichtigste Ergebnisse Schulemann[9] bereits berichtet hat. Die vorliegende Arbeit befaßt sich in ihrem ersten Teil mit Einzelheiten im Verlauf der Malariaerkrankung des Huhns nach Impfung mit parasitenhaltigem Blut, und ergänzt dadurch die frühere Veröffentlichung Jacobis[10]. Im zweiten Teil wird die Immunität bei Hühnermalaria behandelt. Im dritten Teil der Arbeit werden einige spezielle Versuchsergebnisse über die Haltbarkeit bestimmter Entwicklungsformen des Pl. gall. in vitro unter verschiedenen Bedingungen gebracht, wodurch auch einige Fragen aus der Physiologie dieser Parasiten angeschnitten werden *.

Die Arbeit wurde von Herrn Prof. Dr. Schulemann angeregt und auf mannigfache Weise gefördert. Hierfür, sowie für manchen guten Ratschlag möchte ich ihm meinen besten Dank aussprechen.

Material und Methoden.

Der benutzte Malariastamm ist der gleiche wie in der vorigen Arbeit[10], mit Sporozoiten wurde nicht gearbeitet. Die Versuchstiere waren teils einjährig, teils einige Monate alte Hähne verschiedener Hühnerrassen (zum weitaus größten Teil weiße Leghorn). Die Blutausstriche wurden angefertigt und ausgezählt, wie es in der vorigen Arbeit[10] angegeben ist; hinsichtlich der Bezeichnung der Infektionsstärke (+ — ++++) siehe die dortige Tabelle 1. Als parasitenreich ist Blut bezeichnet, das mindestens + + ist. Da Hühnerblut bei der Entnahme sehr schnell

[6] Kikuth u. Mudrow: Z. Bakt., Paras. u. Infektionskrankh. I. Abt., Bd. 142. — [7] Kikuth u. Mudrow: Riv. Malariol. **19**, 1 (1940). — [8] Schulemann u. Spies: Dtsch. med. Wschr. **66**, Nr. 15 (1940). — [9] Schulemann: Ebenda **66**, Nr. 10 (1940). — [10] Jacobi: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 483 (1939).

* Die Arbeit wurde mit Hilfe von Mitteln, die von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (zum Teil vom Roche-Fonds) zur Verfügung gestellt wurden, ausgeführt.

gerinnt, wurde es stets in eine Lösung 3,8 %igen Natriumcitrates aufgezogen. Als 20- bzw. 30 %iges Citratblut ist Blut bezeichnet, dem 20 bew. 30 % dieser Natriumcitratlösung zugesetzt sind.

Untersuchungen über den Verlauf der erythrocytären Malaria nach intramuskulärer und nach intravenöser Impfung mit parasitenhaltigem Blut.

Bei früheren Untersuchungen an mit Pl. gall. infizierten Hähnen (Jacobi 1939)[10] kamen bisweilen Zweifel auf, ob die intramuskuläre Blutüberimpfung einer schwachen intravenösen Blutüberimpfung gleichkommt. Raffaele (1937)[11] gibt an, daß er bei Kanarienvögeln, die subcutan mit parasitenhaltigen Erythrocyten eines mit Pl. relictum infizierten Kanarienvogels geimpft waren, bereits während des ersten Tages der „Inkubation"* Parasiten im Blute nachweisen konnte. Wir prüften durch die folgenden Versuche nach, ob das für Pl. gall. auch gilt:

I. Zwei erwachsenen einjährigen Hähnen wurde je 1 ccm parasitenreiches 50 %iges Citratblut in den Brustmuskel injiziert. Nach 48 Stunden (6 Tage bevor im Blutausstrich dieser Tiere die ersten erythrocytären Parasiten gefunden wurden) wurden diesen Tieren je 8 bzw. 9 ccm Blut entnommen. Dieses Blut wurde je einem Tier intravenös injiziert, es erzeugte bei beiden Tieren nach einer „Inkubationszeit" von 6 Tagen eine normale erythrocytäre Malaria.

II. Drei junge — etwa 4 Monate alte — Hähnchen wurden mit 0,9 ccm parasitenreichem 33 %igem Citratblut intramuskulär infiziert. Einem dieser Tiere wurden 3, einem anderen 4, dem dritten 6 Stunden nach der Impfung etwa 5 ccm Blut entnommen. Dieses Blut wurde je einem gesunden Hähnchen intravenös injiziert. Bei diesen drei sekundär geimpften Tieren wurden nach einer „Inkubationszeit" von 9—10 Tagen im Blutausstrich die ersten Parasiten gefunden.

III. Nun wurde versucht, in dem unmittelbar anschließend an die intramuskuläre Infektion entnommenen Blut Parasiten nachzuweisen. Hierbei gab es natürlich einige Versager. Die Blutentnahme war spätestens 20 Minuten nach der intramuskulären Infektion beendet. Es wurde dem intramuskulär geimpften Tier möglichst viel Blut entnommen. Daß zur Blutentnahme eine andere Spritze genommen wurde wie zur intramuskulären Impfung, sowie daß eine Verunreinigung der Stelle der Blutentnahme von der Stelle der intramuskulären Impfung peinlichst vermieden wurde, ist selbstverständlich.

Sieben derartige Versuche wurden gemacht, die Versuche 1 bis 5 mit einjährigen, 6 und 7 mit etwa 4 Monate alten Tieren. Die Versuchsergebnisse zeigt die Tabelle 1. Bei vier Tieren vermochte das anschließend an die intramuskuläre Impfung entnommene Blut bei einem anderen Tier eine Malaria zu erzeugen, bei drei Tieren dagegen nicht. Zwei dieser drei nega-

[11] Raffaele: Riv. Malariol. **16**, 185 (1937).

* Daß es sich hier nicht um eine echte Inkubationszeit handelt, ist im folgenden gezeigt.

tiven Resultate (Versuch Nr. 3 und 5) sind dadurch erklärbar, daß die Malaria der primär (intramuskulär) geimpften Tiere eine außerordentlich lange „Inkubationszeit" hatte (11 bzw. 12 Tage post Infektionem war der Blutausstrich dieser Tiere erst ++), was besagt (vgl. Demidowa 1934[12]), daß im Blute dieser Tiere zu Beginn der Infektion besonders wenig Parasiten waren. Im Versuch Nr. 6, der auch negativ verlief, ist dem primär geimpften Tier zu wenig Blut entnommen (vgl. Tabelle 1), das sekundär geimpfte Tier erhielt also mit dem Blut nicht genug Parasiten. Bezüglich der Zahl der Parasiten, die nötig ist, um eine Infektion zu erzeugen, vgl. Teil II dieser Arbeit.

Vergleicht man auf der Tabelle 1 den Verlauf der erythrocytären Malaria der primär geimpften Tiere mit dem der sekundär geimpften, so sieht man, daß die Erkrankung gleichartig verläuft. Lediglich die Inkubationszeit ist bei den sekundär geimpften Tieren — außer im Versuch Nr. 7 — länger als bei den primär geimpften. Das ist nicht auffällig, da die sekundär geimpften Tiere im Beginn ihrer „Inkubationszeit" natürlich viel weniger Parasiten im Blute haben als die primär geimpften (vgl. dazu die Angabe Demidowas 1934[12], nach denen bei Blutinfektion mit Pl. praecox die Länge der „Inkubationszeit" deutlich abhängt von der Zahl der überimpften Parasiten).

Der gleiche Verlauf der Malaria bei den primär geimpften Tieren wie bei den sekundär geimpften besagt, daß die Erkrankung nach intramuskulärer Impfung dieselbe ist wie nach ganz schwacher intravenöser Impfung. Es muß ferner nach intramuskulärer Impfung ein sehr großer Teil der überimpften Parasiten zugrunde gehen; denn wir konnten bei den verschiedensten Gelegenheiten folgendes beobachten: Wurde einem Tier dieselbe Parasitenmenge, die den primär geimpften Tieren in den Muskel gespritzt wurde, in die Flügelvene injiziert, so waren im Blutausstrich eines solchen Tieres bereits nach 1—2 Tagen einige Parasiten zu finden (++). Die Abwehrkräfte des Wirtes, die wahrscheinlich schon während der „Inkubationszeit" in Tätigkeit treten, komplizieren natürlich das Bild.

Auffällig ist, daß, wie Jacobi (1939)[10] gezeigt hat, nach intramuskulärer Impfung die exoerythrocytären Formen mit großer Regelmäßigkeit vom 25.—30. Tage post Infektionem auftreten. Das deutet an, daß nach intramuskulärer Impfung fast stets gleich viele Parasiten in das Blut des intramuskulär geimpften Tieres gelangen; denn aus Untersuchungen Zains[13] geht hervor, daß die Zeit des Auftretens der EE-Formen mit der Zahl der im Beginn der Infektion im Blute des geimpften Tieres vorhandenen Parasiten in einem gewissen Zusammenhang steht. Nach intravenöser Injektion großer Mengen parasitenreichen Blutes treten nach Zain[13] die EE-Formen früher auf.

[12] Demidowa: Gi. Batter. **13**, S. 872. — [13] Zain: Naunyn-Schmiedebergs Arch., erscheint demnächst.

Tabelle 1. Verlauf der erythrocytären Malaria.

A: Intramuskulär geimpfte Tiere, B: Tiere, die mit dem Blute der Tiere A geimpft wurden (Näheres s. Text). Die Zahlen am Impftag geben an, wieviel ccm Blut den Tieren A entnommen und den Tieren B intravenös injiziert wurden.

Impftag	1		2		3		4		5		6		7	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
	16		16		16		15		13		5.5		8	
1														
2														
3														
4	−	−	−	−	−	−	−	−			−	−		
5	$+^1$ †				−	−	$+^1$	−			−			
6		$+^1$	$+^3$	−	−	−	−	−					$+^5$	++
7		$+^2$	++	−			++	−			$+^1$	−	++	++
8		$+^8$	+	−	−	−	++	$+^3$			$+_5$	−	++	+++
9									$+^3$	−			+++	++++
10		++++	++++	$+^1$	$+^1$	−	++	$+^4$			++		+++	++++
11		++++	++++	++	−	−	++	++	++	−			++++	++++
12		++++	++++	++	++	−	++	++			++++	−	†	
13		++++ †	++++	++	++	−	$+^7$	+++	++++	−				+++
14			++	++++	+	−	$+^8$	++++			++	−		
15			++	++++	++	−	$+^1$	++			$+^7$			

Beobachtungen von James 1939[14] und Mudrow 1940[5], wonach die EE-Formen bei einem geringen Teil von mit Blut geimpften Tieren sehr früh erscheinen, sind wohl dadurch zu erklären, daß diese Autoren zum Teil intravenös geimpft haben, und daß sie mit sehr jungen Tieren arbeiteten. Bei Küken, die in der ersten Woche nach dem Schlüpfen mit Pl. gall. intramuskulär geimpft wurden (Blutimpfung), konnte auch in unserem Institut

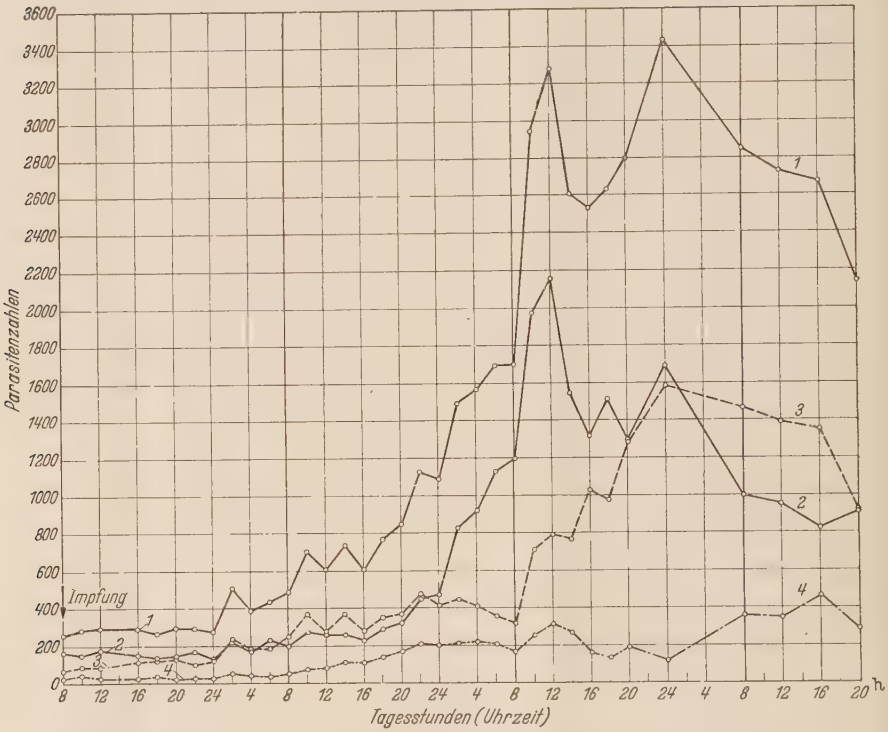


Abb. 1a. Gesamtzahl der Parasiten und Zahl der einzelnen Parasitenstadien in 100 Gesichtsfeldern (Obj. H_1 100, Ok. 10×, Schrägtubus. Zeiss) von 35 Blutausstrichen. Die Blutausstriche stammen von einem Hahn, der mit parasitenreichem Blut intravenös geimpft worden war, und wurden während 84 Stunden nach der Impfung angefertigt. 1 = Gesamtzahl der Parasiten. 2 = Jüngste Trophozoiten. 3 = Ältere Trophozoiten. 4 = Schizonten.

ein sehr frühes Auftreten von EE-Formen durch A. Weber[15] nachgewiesen werden. Schließlich sei noch bemerkt, daß James[14] und Mudrow[5] zwischen die einzelnen Blutimpfungen Mückenpassagen einlegten, was den Verlauf der Erkrankung vielleicht auch beeinflußt (vgl. Zain[13])*.

[14] James, S. P.: Trans. Soc. trop. Med. **32** (1939). — [15] Weber, Alois: Beiträge zur Pathologie und exper. Therapie der Infektion des Kükens mit Pl. gall. Inauguraldissertation, Bonn 1939.

* De Ritis [Riv. Parassitol. **4**, Nr. 1 (1940)] weist noch besonders darauf hin, daß die Art des übertragenen Blutes das Auftreten der EE-Formen beeinflusse. Wir haben die Tiere, an denen wir das Auftreten der EE-Formen untersuchten, mit Blut geimpft, das den Spendern auf der Höhe des akuten Anfalls entnommen worden war.

Aus Angaben Giovannolas (1938)[16] muß man entnehmen, daß nach intravenöser Impfung die erythrocytäre Malaria anders verläuft als nach intramuskulärer Impfung. Aus Versuchen von Zain[13] ist zu entnehmen, daß nach intravenöser Injektion großer Mengen parasitenreichen Blutes die Parasiten sich in ihrem neuen Wirt direkt weiter vermehren. Über das Schicksal solcher intravenös geimpfter Parasiten suchten wir nun

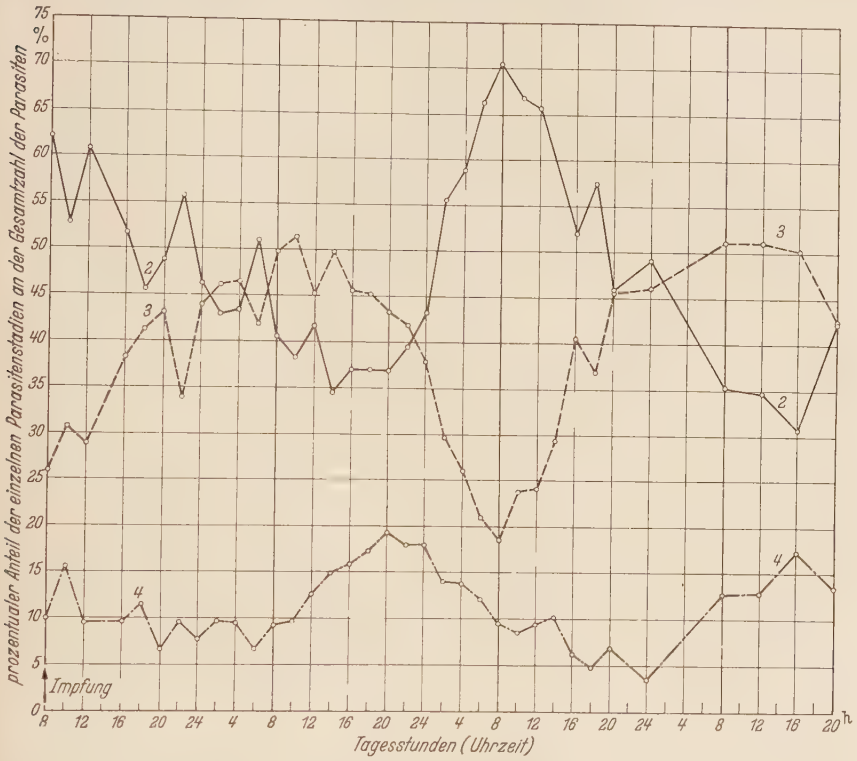


Abb. 1b. Prozentualer Anteil der einzelnen Parasitenstadien an der Gesamtzahl. Umrechnung der in Abb. 1a wiedergegebenen Ergebnisse. 2 = Jüngste Trophozoiten. 3 = Ältere Trophozoiten. 4 = Schizonten.

genauer Klarheit zu gewinnen. Wir injizierten deshalb zwei 1 Jahr alten Tieren je 8 ccm sehr parasitenreiches Blut, das in je 2 ccm Natriumcitrat (3,8%) aufgezogen war. Da viele der injizierten Erythrocyten mehrfach befallen waren, erreichten wir bei den geimpften Tieren sofort eine sehr akute Blutinfektion: Das Blut beider Tiere war 2 Minuten nach der Impfung ++++. Von beiden Tieren wurde mehrere Tage hindurch alle 2 Stunden je ein Blutausstrich gemacht, die Ausstriche wurden bei 1500facher Vergrößerung durchgesehen. Die absoluten Zahlen der so ausgezählten Parasiten sind auf den Abb. 1a und 2a, die relativen der verschiedenen Parasitenformen auf den Abb. 1b und 2b zu sehen. Waren

[16] Giovannola: Riv. Parassitol. **2**, 129 (1938), Abschn. „Sincronicità" (S. 135).

mehr als 1500 Parasiten in der auszuzählenden Fläche, so sahen wir weniger durch, da das Auszählen sehr viel Zeit wegnahm. Kontrollzählungen zeigten, daß die relativen Parasitenzahlen nach unserer Methode ziemlich genau (Fehlergrenze unter 4%), die absoluten dagegen nur ungenau (Fehlergrenze unter 27% bei den Schizonten — Definition „Schizont" s. u. —, unter 22% bei den übrigen Formen) festgestellt werden konnten.

Die einzelnen Parasitenformen sind folgendermaßen bezeichnet und charakterisiert:

1. Jüngste Trophozoiten: Klein, mit einem Chromatinkorn, wenig Cytoplasma und ohne Pigment.

2. Ältere Trophozoiten: Größer als die jüngsten Trophozoiten, mit einem großen Chromatinkorn und deutlichem Pigment. Das Pigment ist unregelmäßig geformt und liegt in einem Haufen.

3. Schizonten: Mehrere Chromatinkörner und ein großer unregelmäßiger Pigmenthaufen vorhanden.

4. Geschlechtsformen: Große Formen mit einer zusammenhängenden großen Chromatinmasse und zahlreichen kleinen, über den ganzen Parasiten verteilten Pigmentkörnern. Wegen ihrer geringen Zahl (0,2—3,5% der Gesamtzahl der Parasiten) sind sie in den Kurven nicht eingetragen.

Das überimpfte Blut hatte, wie aus den Abb. 1b und 2b zu ersehen ist, über 60% jüngste Trophozoiten, etwa 25% ältere Trophozoiten und etwa 10% Schizonten. Die Abb. 1 und 2 zeigen nun in ihrem weiteren Verlauf, daß keine Parasitenform in dem neuen Wirt völlig verschwindet, obwohl die Parasiten in dem Tier Nr. 1 sich innerhalb der ersten 16 Stunden in ihrem neuen Wirt fast nicht vermehren. In dem Tier Nr. 2 dagegen zeigen sie schon nach 6 Stunden eine deutliche Zunahme. Das mag damit zusammenhängen, daß dem Tier Nr. 2 das parasitenhaltige Blut direkt nach der Entnahme aus dem Spender, dem Tier Nr. 1 dagegen 10 Minuten nach der Entnahme injiziert wurde.

Die Abb. 1b und 2b lassen ferner erkennen, daß sofort nach der Impfung die relativen Zahlen der jüngsten Trophozoiten ab-, der älteren Trophozoiten dagegen zunehmen, während die der Schizonten — besonders deutlich bei Tier Nr. 1 — sich nur unwesentlich verändern. Daraus kann man schließen, daß die jüngsten Trophozoiten sich nach der Überimpfung direkt zu älteren Trophozoiten weiterentwickeln, indeß bei dem Übergang vom älteren Trophozoiten zum Schizont die Entwicklung vorübergehend stagniert. Ob diese Erscheinung ein Entwicklungsstillstand ist oder ob sie durch das Zugrundegehen zahlreicher Schizonten vorgetäuscht wird, ist nicht sicher zu sagen. Jedenfalls findet in der ersten Zeit nach der Impfung ein Befall neuer Erythrocyten fast nicht statt.

Die Abb. 1a und 1b zeigen ferner, daß im weiteren Verlauf dieser Malaria keine der Formen zu gewissen Zeiten aus dem Blute verschwindet,

daß es also auf diese Weise nicht möglich ist, einen reinen Zyklus zu erzeugen. Das Spenderblut hatte, wie schon erwähnt, 60% jüngste Trophozoiten, im Empfängerblut war im günstigsten Fall eine Form (jüngste Trophozoiten) bis zu 70% vertreten. Aus der Abb. 1b geht hervor, daß der Entwicklungszyklus der Malaria hier etwa 40 Stunden dauert. Das entspricht ungefähr den Angaben Giovannolas (1938)[16].

Diese Versuche besagen, daß die intramuskuläre Blutimpfung nichts anderes als eine sehr schwache intravenöse Blutimpfung ist, ferner, daß nach intravenöser Blutimpfung der größte Teil der überimpften Parasiten sich in dem neuen Wirt direkt weiter vermehrt, und daß die alten Stadien empfindlicher sind als die jungen.

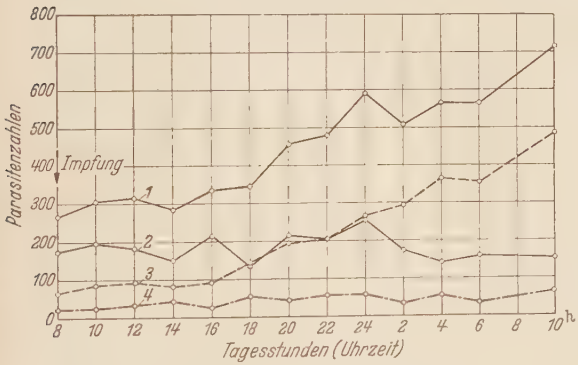


Abb. 2a. Gesamtzahl der Parasiten und Zahl der einzelnen Parasitenstadien in 100 Gesichtsfeldern (Obj. H_1 100, Ok. 10×, Schrägtubus, Zeiss) von 13 Blutausstrichen. Die Blutausstriche stammen von einem Hahn, der mit parasitenreichem Blut intravenös geimpft worden war, und wurden während 26 Stunden nach der Impfung angefertigt. 1 = Gesamtzahl der Parasiten. 2 = Jüngste Trophozoiten. 3 = Ältere Trophozoiten. 4 = Schizonten.

Abb. 2b. Prozentualer Anteil der einzelnen Parasitenstadien an der Gesamtzahl. Umrechnung der in Abb. 2a wiedergegebenen Ergebnisse.
2 = Jüngste Trophozoiten.
3 = Ältere Trophozoiten.
4 = Schizonten.

Untersuchungen über die Immunität des chronisch malariakranken Huhnes.

Wie bei den Malariaarten des Menschen, so gibt es auch bei denen der Vögel eine Malariaimmunität (Immunität „die Summe aller Erscheinungen, die das Verhältnis Wirt zu Parasit zugunsten des ersteren beeinflußt", Nauck und Malamos 1935[17]). Diese Immunität ist zunächst daran erkennbar, daß ein Tier einen Malariaanfall spontan zu überwinden

[17] Nauck u. Malamos: Z. Immunit.forsch. **84**, 342, Heft 4.

vermag, weiterhin daran, daß nach der Überwindung dieses akuten Anfalls das Tier in den meisten Fällen chronisch infiziert bleibt, und daß diese chronische Infektion das Allgemeinbefinden des Tieres nicht erkennbar beeinträchtigt. Es ist verständlich, daß diese chronisch infizierten Tiere gegenüber einer intramuskulären Infektion mit Parasiten des gleichen Stammes, an dem sie latent erkrankt sind, ebenso resistent sind wie gegenüber den in ihnen schon vorhandenen Parasiten.

Die Immunität der latent infizierten Tiere ist keine absolute, sie kann vielmehr bei Änderungen des Allgemeinzustandes des Wirtes zurückgehen, wodurch das Recidiv entsteht (Dofflein-Reichenow 1929[18] u. a.). Über den Grad der Immunität bei der Pl. gall.-Infektion des Huhnes ist wenig bekannt, so daß uns die Prüfung der Immunität einer größeren Anzahl von Tieren gegenüber starker intravenöser Blutinfektion von Interesse zu sein schien.

32 Tiere (Tabelle 2) standen uns zu den Versuchen zur Verfügung. Sie waren 6—9 Monate alt, 1200—2500 g schwer und bis auf Nr. 31 Hähne. Sie hatten zwischen dem 20. Mai und 30. Juli 1938 eine Impfmalaria überstanden, und zwar teils mit, teils ohne medikamentöse Behandlung.

Die Superinfektion erfolgte am 14. bis 17. November 1938. Den Tieren wurden 6,3—13,2 ccm, im Durchschnitt 9 ccm, parasitenreiches Blut intravenös injiziert. Zur Beurteilung der Stärke der Superinfektion wurde nach der Impfung von jedem Tier ein Blutausstrich gemacht, dessen Parasitengehalt auf der Tabelle 2 zu sehen ist.

Wie Tabelle 2 zeigt, war bei 19 von den 32 Tieren die Parasitenzahl bereits am Tage nach der Impfung abgesunken, bei 8 Tieren blieb sie 1 bis 2 Tage auf der gleichen Höhe wie direkt nach der Impfung, sank dann jedoch auch sehr rasch ab. Nur bei fünf Tieren sah man in den ersten Tagen nach der Superinfektion eine geringe Zunahme der Parasitenmenge. Bereits am dritten Tage nach der Superinfektion enthielt das Blut aller Tiere — ausgenommen allein Nr. 5 — nur noch wenige Parasiten (Ausstrich unter ++, großenteils sogar schon —). Nur Tier Nr. 5 hatte einen etwas länger dauernden, aber schwachen Anfall. Später verhielten sich die Tiere ausnahmslos wie latent infizierte Tiere (vgl. Jacobi und Neele[19]), meist fanden sich keine, bisweilen einzelne Parasiten in ihrem Blutausstrich. Ein deutliches Recidiv wurde nur zweimal, bei den Tieren Nr. 5 und 18 gefunden.

(Da in diesem Versuch vom 6. Tage nach der Superinfektion an nur 50 Gesichtsfelder eines jeden Blutausstriches durchgesehen wurden, wurde von da ab die Zahl der gefundenen Parasiten auf der Tabelle stets verdoppelt.)

Der Zusammenhang der EF-Formen mit den erythrocytären Formen ist bei Pl. gall. nicht völlig geklärt. Wie in der Einleitung schon er-

[18] Dofflein-Reichenow: Lehrbuch der Protozoenkunde, 5. Auflage, S. 1019 bis 1020. Jena 1929. — [19] Jacobi u. Neele: Naunyn-Schmiedebergs Arch., erscheint demnächst.

wähnt, haben Kikuth und Mudrow[7], sowie Schulemann und Spies[8] nachweisen können, daß sich die EE-Formen aus Sporozoiten bilden. Daß sie sich auch aus erythrocytären Formen zu bilden vermögen, ist aus folgenden Gründen so gut wie sicher: Trotz zahlreicher Generationen von Blutüberimpfungen konnten wir in den geimpften Tieren, wenn sie zur richtigen Zeit untersucht wurden, stets reichliche Mengen von EE-Formen nachweisen. Im peripheren Blut kreisende EE-Formen konnten wir nur selten und nur dann beobachten, wenn das Vorhandensein von EE-Formen im Gehirn dieser Tiere anzunehmen war (Jacobi[10]). Falls sich EE-Formen nur aus Sporozoiten oder EE-Formen bilden könnten, hätten gelegentlich EE-formfreie Stämme auftreten müssen. Wir haben so etwas trotz zahlreicher Untersuchungen nicht beobachten können, auch haben wir in der Literatur über Pl. gall. nichts Derartiges gefunden. Auch das von Knoche[20] beobachtete gehäufte Auftreten der EE-Formen nach Reizung des R. E. S. spricht dafür, daß sich diese EE-Formen aus erythrocytären Formen bildeten (s. u.).

Nimmt man somit an, daß sich die EE-Stadien aus erythrocytären Formen zu bilden vermögen, so fragt es sich, wie sie sich daraus bilden. Brumpt 1937[21] hat von einem Gewebstropismus gesprochen, womit er meint, daß gewisse aus den Erythrocyten des Blutes schlüpfende Merozoiten sich infolge unbekannter Vorgänge im Blute einem anderen Gewebe, nämlich dem Endothel der Blutgefäße, zuwendeten.

Schulemann vermutet, besonders auf Grund der im folgenden zitierten Versuchsergebnisse Knoches[20], daß nach Phagocytose zahlreicher erythrocytärer Parasiten durch das R. E. S. des Wirtes ein Teil dieser phagocytierten Parasiten am Leben bleiben und zu EE-Formen würde. Knoche[20] konnte zeigen, daß nach Reizung des R. E. S. die erythrocytäre Infektion unterdrückt wurde, indeß die EE-Formen gehäuft auftraten. Unterstützt wurde die Vermutung Schulemanns ferner dadurch, daß wir bei früheren Untersuchungen bei einem superinfizierten Hahn reichlich EE-Stadien gefunden hatten.

Es wurden daher von den 32 superinfizierten Hähnen zweimal wöchentlich je 2 getötet und auf EE-Formen geprüft. Wir beschränkten uns dabei auf die Untersuchung von Gehirnabstrichen, in denen die EE-Formen nach den Angaben Brumpts[21], Mudrows[5], sowie nach unseren Erfahrungen am regelmäßigsten zu finden sind. Wie die Tabelle 2 zeigt, konnten zwischen dem 10. und 74. Tag nach der Superinfektion bei keinem der Tiere EE-Stadien nachgewiesen werden.

Dieser negative Befund läßt natürlich verschiedene Deutungen zu. Am wahrscheinlichsten ist es, daß ein chronisch infiziertes Tier ebenso wie gegenüber erythrocytären Parasiten auch gegenüber EE-Formen immun ist.

[20] Knoche: Naunyn-Schmiedebergs Arch., erscheint demnächst. — [21] Brumpt: C. r. Soc. Biol. **125**, 810.

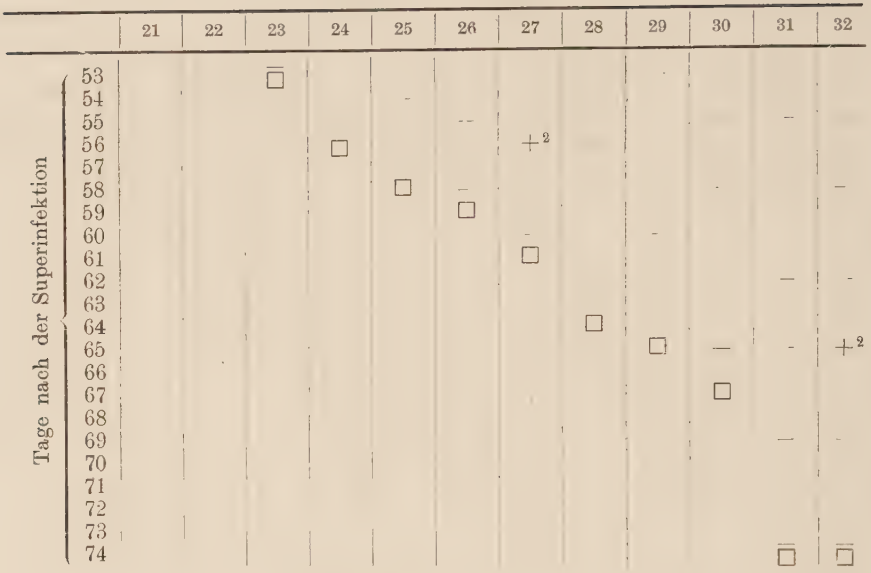
Tabelle 2. Verlauf der erythrocytären Malaria
□ = Tötung des betreffenden Tieres,

Tage nach der Superinfektion	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Vor Impfung	−	$+^{1}$	−	$+^{1}$	$+^{3}$	−	−	−	−	−	−	−	$+^{6}$	−	$+^{1}$
Nach " 1	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	+	++	++	++	++
2	+	++	++	++	++	++	++	+	+	+	++	++	++	+	$+^{7}$
3	+	$+^{1}$	$+^{5}$	++	+	$+^{9}$	+	+	$+^{2}$	++	$+^{2}$	++	++	++	−
4	$+^{1}$	−	−	$+^{3}$	+	−	−	−	−	$+^{2}$	−	$+^{6}$	$+^{5}$	−	$+^{1}$
5		−		$+^{3}$	+	$+^{1}$		$+^{3}$		−		−		−	−
6		$+^{1}$		$+^{7}$	−	−	$+^{2}$	−	$+^{2}$	−	$+^{2}$	−	−	−	
7					++										−
8	−	$+^{2}$	−	−	−	−	−	−	−		$+^{4}$	−	$+^{5}$		−
9					$+^{8}$										−
10	$+^{2}$	$+^{4}$	−		$+^{2}$	$+^{2}$	−			$+^{4}$		−		−	−
11	□				−										
12		$+^{1}$	−		−	−				−		−			
13		□											−		−
14					$+^{2}$										−
15			□	−		$+^{2}$	−	−	−		−			−	−
16					−	−			−	−		−	−	−	
17				□	$+^{2}$						−	−	−		−
18												−		−	
19							−		−				−		
20					++										
21						$+^{2}$	−	−	−	−	−	−	−	−	
22					$+^{+}$										−
23					□										
24						□	□					−		−	
25															
26								□	−				$+^{2}$		
27															−
28									□	−				−	
29											−		−		
30										□					−
31											□	−			
32															
33												□	−		
34															−
35													□	−	
36															
37														□	−
38															□
39															
40															
41															
42															
43															
44															
45															
46															
47															
48															
49															
50															
51															
52															

chronisch infizierten Hähnen nach Superinfektion.
ehirn keine EE-Formen nachweisbar.

17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
–	+3	–	–	–	–	–	+1	+1	–	+1	–	–	–	–	–
+10	+	+4	++	+5	++	+2	++	+	++	+9	++	++	++	++	++
+6	++	+3	+3	+3	++	+2	+	++	++	+6	+	++	++	++	+2
+1	+1	–	+1	+1	++	–	++	+2	+5	–	+10	–	+2	+	–
–	–		+1		+4		–	–	+2		–		–	+6	–
–		+2		+6	+2	–	–		+1	–	–	+2	–	–	–
							–	–			–				
		–		+2	+2	–			+2	–		–	–	–	–
–			+2				–	+2			–				
		–		–	+4	–			–	+2		+2	–	–	+2
–	+4		–				–	+2							
					–				–					–	
	–					–	–			–	–	–			
		–			–			–					–	+2	–
							+2		–	–	–	–			
		–		+2	–	–		–	–	–		–	–	–	–
			–								–				
					–				–						–
						–	+2			+2	–	–			
	+4		–					+2							
		–		–		–			–	–		–	–	–	–
	++		–				–	–			–				
					–				–				+2	–	–
				–						–					
	++		–		–			–	–				–	–	–
							–								
	–														
					+4				–		–		–		
		–		–			–			–		–			
	–							+2							
		–		–		–	–		–	–	–		–	–	–
		–	–	+2		–		–		–		–			
	+4				–										
	□														
		□	□		–	–		–							
													–		
					–										
				□		–	–		–	–	–	–	–	–	
					□										
							–2								

Tabelle 2 (Fortsetzung).



Eine Malariaimmunität bei völlig gesundeten parasitenfreien Wirtstieren konnte einwandfrei bisher nur von Nauck und Malamos[17] bei mit Pl. knowlesi infizierten Cercopithecus mona und Macacus cynomolgus nachgewiesen werden. Dieser Nachweis ist schwer zu erbringen, da man erstens ein malariakrankes Tier nicht ohne weiteres parasitenfrei machen kann, zweitens die völlige Gesundung eines Tieres nicht leicht nachweisbar ist, und da drittens die Malariaimmunität (auch von Parasitenträgern), wie bereits erwähnt, keine absolute ist, vielmehr mit dem Allgemeinzustand des Wirtstieres schwankt.

Bei den 32 im vorhergehenden behandelten Tieren haben wir vorausgesetzt, daß diese Tiere Parasitenträger seien. Das sollte schon dadurch, daß stets der Ausdruck „Superinfektion" angewandt wurde, hervorgehoben werden. Daß diese Tiere sehr wahrscheinlich Parasitenträger waren, geht einmal daraus hervor, daß wir bei zahlreichen Blutuntersuchungen von Tieren, bei denen der akute Anfall 6—17 Monate zurücklag, in den meisten Fällen hin und wieder einen bis einige erythrocytäre Parasiten fanden (vgl. Jacobi und Neele[19]). Das Blut von latent infizierten Hähnen, die anscheinend parasitenfrei waren, erwies sich nach intravenöser Übertragung auf gesunde Tiere stets als infektiös.

Es interessierte uns nun der Parasitengehalt des Blutes solcher Tiere, und wir machten zur Klärung dieser Frage die beiden folgenden Versuche:

1. Ein Hahn, der im Juli 1938 eine Impfmalaria überstanden hatte, wurde vom 23. Januar bis 3. Mai 1939 — also während etwa dreier Monate — zweimal wöchentlich auf Blutparasiten untersucht. Im ganzen wurden

in dieser Zeit 25 Ausstriche von seinem Blut angefertigt, in keinem der Ausstriche konnten Parasiten nachgewiesen werden. Wie üblich wurden je 100 Gesichtsfelder durchgesehen.

Diesem Tier wurden am 3. Mai 1939 0,8 ccm Blut entnommen, das Blut mit 0,2 ccm einer 3,8%igen Lösung von Natriumcitrat und 1 ccm 0,9%iger Kochsalzlösung verdünnt. Hiervon wurde 1 ccm einem Hahn intravenös injiziert. Der in der Spritze zurückbleibende 1 ccm wurde nun mit 1 ccm 0,9%iger Kochsalzlösung verdünnt, davon wieder 1 ccm einem Hahn injiziert, usw. Auf diese Weise wurden 5 etwa $^1/_2$ kg schwere Hähnchen infiziert, sie bekamen also je 0,4, 0,2, 0,1, 0,05, 0,025 ccm Blut. Die Erythrocyten der stärkst verdünnten Blutlösung wurden in der Zählkammer gezählt, und es wurde errechnet, daß das Tier, das 0,025 ccm Blut bekommen hatte, 88400000 Erythrocyten überimpft bekommen hatte. (Das Spenderblut hatte demnach 3544000 Erythrocyten in 1 ccm.)

Die Tiere, denen 0,4, 0,2 und 0,05 ccm Blut intravenös injiziert worden waren, erkrankten, das mit 0,05 ccm beimpfte aber erst sehr spät (am 10. Tage nach der Impfung war der Blutausstrich dieses Tieres +², am 12. Tage ++). 0,1 und 0,025 ccm Blut erwiesen sich als nicht mehr infektiös. Das etwas unregelmäßige Ergebnis ist wahrscheinlich eine Folge der verschiedenen Reaktionsfähigkeit der Empfänger, die sich bei den stärkeren Verdünnungen besonders deutlich auswirkt.

2. Das Ausgangstier dieses Versuchs hatte wie das vorige im Juli 1938 eine Impfmalaria durchgemacht. Von ihm wurden zwischen dem 23. Januar und dem 2. Juni 1939 — also 4 Monate hindurch — durchschnittlich zweimal wöchentlich, im Ganzen 33mal, Blutausstriche geprüft. Kein einziger Parasit konnte während der ganzen Zeit nachgewiesen werden.

Die Versuchstechnik war die gleiche wie in dem ersten Versuch, nur wurde das Spenderblut nicht mit 0,9%iger Kochsalzlösung, sondern mit dem abzentrifugierten Plasma des Blutes eines gesunden Tieres verdünnt. (Das Blut des gesunden Tieres war wie das des Spenders mit $^1/_5$ 3,8%igen Natriumcitrats versetzt.) Die Empfänger waren 750—1000 g schwer. Ihnen wurden je 0,2, 0,1, 0,05, 0,025 und 0,0125 ccm Blut intravenös injiziert. 0,0125 ccm enthielten 38760000 Erythrocyten. 0,2, 0,1 und 0,05 ccm Blut erzeugten eine Malaria, 0,025 und 0,0125 ccm nicht mehr.

Wir sehen somit, daß 88 bzw. 77 Millionen Erythrocyten dieser chronisch infizierten Tiere keine Infektion mehr erzeugen können. Vergleichen wir einmal damit die Zahl der Erythrocyten, die wir in 100 Gesichtsfeldern eines Blutausstriches übersehen können: Liegen in einem Ausstrich die Erythrocyten so dicht beieinander, daß sie sich eben noch nicht gegenseitig überdecken, so enthalten 100 Gesichtsfelder dieses Ausstriches etwa 80000—90000 Erythrocyten. Ein mittelmäßig dichter Ausstrich enthält 55000—60000, ein dünner etwa 25000 Erythrocyten in 100 Gesichtsfeldern.

Nach Coggeshall und Eaton[22] können bei Rhesusaffen bereits 1—10 Parasiten von Pl. knowlesi, intraperitoneal injiziert, eine Infektion erzeugen. Demidowa[12] vermochte Zeisige bzw. Flachsfinken mit einem einzigen mit Pl. praecox behafteten Erythrocyten in 2,86%, mit 50 befallenen Erythrocyten in 25% der Fälle erfolgreich zu infizieren. Nimmt man an, daß die intravenöse Injektion von 50 Parasiten von Pl. gall. zur Erzeugung einer Malaria genügt, so wird verständlich, daß im Blutausstrich der eben beschriebenen Spender keine erythrocytären Parasiten zu finden waren; denn 0,05 ccm des Blutes dieser Tiere enthielten erst die infektiöse Dosis, und um $^1/_{50}$ dieser Blutmenge zu übersehen, müßte man gut 5000 Gesichtsfelder durchmustern. Andererseits zeigen die beiden Versuche, daß das Blut von anscheinend ganz gesunden Tieren doch noch eine große Zahl von Parasiten beherbergt.

Untersuchungen über die Haltbarkeit der Plasmodien in einem hämoglobinfreien Medium.

Nach den Beobachtungen von Christophers und Fulton[23] an Pl. knowlesi verbrauchen in vitro gehaltene erythrocytäre Parasiten dieser Art Sauerstoff und geben Kohlensäure ab. Dabei wird das Oxyhämoglobin der die Parasiten umschließenden Erythrocyten reduziert. Daß es sich bei diesem Sauerstoffverbrauch um Lebensvorgänge der Parasiten handelt, wird unter anderem dadurch wahrscheinlich gemacht, daß dieser Sauerstoffverbrauch nach Untersuchungen von Fulton und Christophers[24] von therapeutisch wirksamen Malariaheilmitteln unterdrückt wird. Später bestimmten die gleichen Autoren[25] den Sauerstoffverbrauch von Parasiten in einem erythrocyten- und hämoglobinfreien Medium. Dabei konnten sie eine geringe Sauerstoffaufnahme durch die Parasiten feststellen, obwohl anzunehmen war, daß die Parasiten durch die Vorbehandlung geschädigt waren. Ob das Vorhandensein von Hämoglobin für alle Lebensvorgänge der Parasiten also wirklich notwendig ist, wird durch diese Beobachtungen wieder fraglich. Untersuchungen von Zain[13] ergaben, daß scharf und sauber abzentrifugiertes Plasma parasitenreichen Citratblutes, wenn es einem gesunden Tier in genügender Menge (2 ccm oder mehr) intravenös injiziert wird, stets infektiös ist. Es sind also in derartigem Plasma Infektionserreger vorhanden. Nach den Untersuchungen Zains[13] ist es wahrscheinlich, daß es sich dabei um kurz vor der Sporulation befindliche Schizonten handelt. Man kann also durch das Zentrifugieren Infektionserreger von Pl. gall. — und zwar sehr wahrscheinlich erythrocytäre Parasiten — in einem erythrocyten- und hämoglobinfreien Medium gewinnen.

[22] Coggeshall u. Eaton: J. exper. Med. (Am.) **68**, Nr. 1 (1938). — [23] Christophers u. Fulton: Ann. Trop. Med. Nr. 32, S. 43 (1938). — [24] Fulton u. Christophers: Ebenda Nr. 32, S. 77 (1938). — [25] Christophers u. Fulton: Ebenda **33**, 161 (1939).

Überlegungen von Schulemann und mir führten uns dazu, zu prüfen, ob die im Plasma vorhandenen Infektionserreger von Pl. gall. in ihrem hämoglobinfreien Medium weniger haltbar seien als in einem hämoglobinhaltigen. Bevor wir die Resistenz der im Plasma vorhandenen Parasiten prüften, wollten wir jedoch Klarheit haben über die Haltbarkeit der Parasiten im unbehandelten Citratblut. Dazu wurde folgender Versuch gemacht:

Zunächst sei noch bemerkt, daß bei diesen Versuchen steril gearbeitet werden muß, da andernfalls die Ergebnisse, wie Vorversuche gezeigt haben, nicht einheitlich sind.

Es wurden 19 ccm parasitenreichen 20%igen Citratblutes auf vier zylindrische Gläser (Durchmesser 2,8 cm, dieselben Gläser wurden auch bei den weiteren Versuchen benutzt) verteilt. Die Gläser wurden im Dunkeln bei 20—24° C aufgehoben. Nach 24, 48, 72 und 96 Stunden wurde je einem Tier der Inhalt eines der Gläser intravenös injiziert. Alle vier Tiere bekamen eine normale Blutmalaria (vgl. Tabelle 3); der Blutausstrich des ersten Tieres war bereits am dritten, des zweiten am sechsten, des dritten am achten und des vierten am zehnten Tage nach der Impfung ++.

Tabelle 3. Verlauf der erythrocytären Malaria bei vier Tieren, die intravenös mit je 4 ccm des gleichen Blutes geimpft worden waren. Tier A wurde 24, B 48, C 72 und D 96 Stunden, nachdem das Blut entnommen worden war, geimpft. Sofort nach Impfung wurde das Blut eines jeden Tieres kontrolliert.

Tage nach der Blutentnahme	A	B	C	D
1	++			
2	+2	+2		
3	+6	—	-	
4	++	—	—	
5	++		-	
6				
7	++++	++	—	
8	++++	++	+1	
9	++++	++++	+3	
10	++++	++++	+3	
11	++++	++++	++	
12	++++	++++	++	
13				
14		†	++++	++
15			++++	++
16			++++	++++
17			†	
18	++			++++

Dasselbe wurde nun mit parasitenhaltigem Plasma, sowie mit Plasma, dem gesundes Hühnerblut zugesetzt war, versucht. Drei getrennte Versuche wurden dazu angestellt:

Erster Versuch. 22 ccm parasitenreichen 20%igen Citratblutes wurden 20 Minuten zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde ab-

gehoben und darauf gut durchgeschüttelt. Zwei gesunden Hähnen wurden je 2 ccm dieses Plasmas intravenös injiziert. Beide bekamen 8 bzw. 13 Tage nach der Impfung eine normale Blutmalaria. 8 ccm des Plasmas wurden auf vier Zylindergläser verteilt, in zwei dieser Zylindergläser wurden zu dem Plasma noch 2 ccm 20%iges Citratblut eines gesunden, malariafreien Hahnes gegeben. Die Gläser wurden — wie auch in den vier noch folgenden Versuchen — 24 Stunden im Dunkeln bei 19—25° C aufbewahrt, dann wurde ihr Inhalt je einem Hahn intravenös injiziert. Die beiden Tiere, die nur Plasma erhielten, blieben gesund, die beiden anderen, die Plasma und gesundes Blut bekamen, wurden am 10. Tage nach der Impfung malariakrank.

Zweiter Versuch. 6 ccm parasitenreiches Blut, verdünnt mit 4 ccm Citrat, wurden 20 Minuten zentrifugiert. Dadurch erhielten wir 7,5 ccm Plasma. Von diesem Plasma wurden einem Hähnchen 1,5 ccm intravenös injiziert, dieses Hähnchen bekam eine normale Infektion. Je 1,5 ccm Plasma wurden in vier Zylindergläser gegeben, in eins dieser Gläser kamen dazu 2 ccm, in ein zweites 1 ccm 25%iges malariafreies Citratblut. Das Plasma allein war in beiden Fällen nicht infektiös, Plasma mit Blut war im ersten Fall infektiös, im zweiten nicht. Dieses negative Ergebnis hing wahrscheinlich mit dem Mißlingen der Injektion zusammen; $^1/_4$ der Plasma-Blut-Lösung gerieten hier subcutan, nur $^3/_4$ intravenös.

Dritter Versuch. Dieser Versuch, bei dem je 3 ccm Plasma parasitenreichen 20%igen Citratblutes für das Kontrolltier und für die vier nach 24 Stunden geimpften Tiere zur Verfügung standen, hatte dasselbe Ergebnis wie der erste Versuch: Parasitenhaltiges Plasma erwies sich nach 24stündigem Stehen in beiden Fällen als nicht infektiös, nach 24stündigem Stehen mit Zusatz gesunden Blutes dagegen als infektiös.

Mit diesen Versuchen ist also eindeutig bewiesen, daß parasitenhaltiges Plasma allein beim Stehen seine Infektiosität verliert, daß dagegen das gleiche Plasma, wenn ihm gesundes Hühnerblut zugesetzt ist, seine Infektiosität beim Stehen behält.

Es beschäftigte uns nun noch die Frage, ob die konservierende Wirkung des gesunden Blutes dadurch zustande käme, daß den Parasiten mit den Erythrocyten Sauerstoff und Hämoglobin zugeführt würden, oder dadurch, daß die Parasiten in den zugeführten Erythrocyten Schutz suchten und sich auf diese Weise dem schädigenden Einfluß des Citrats oder anderer im Plasma vorhandener oder sich bildender Stoffe entzögen. Wir hofften, der Klärung dieser Frage dadurch näherzukommen, daß wir nach dem 24stündigen Stehen der Plasma-Blut-Lösung die Infektiosität des Plasmas und der Erythrocyten gesondert prüften. Es wurden deshalb noch die folgenden Versuche gemacht:

Vierter Versuch. Vier Zylindergläser wurden mit je 3 ccm Plasma, das dem parasitenreichen 20%igen Citratblut eines schwer kranken

Hähnchens entstammte, beschickt. In drei dieser Gläser wurden zu dem Plasma je 3 ccm 20%iges Citratblut eines gesunden Hahnes gegeben. Nach 24stündigem Stehen vermochte das Plasma, dem kein Blut zugesetzt war, wie stets nach intravenöser Injektion keine Malaria zu erzeugen. Im Gegensatz dazu erwiesen sich sowohl das Plasma als auch die Erythrocyten der drei anderen Gläser als infektiös, alle sechs damit geimpften Hähne wurden malariakrank.

Das Plasma wurde von den Erythrocyten in folgender Weise getrennt:

I. In zwei Fällen wurden die Erythrocyten abzentrifugiert und das überstehende Plasma abgehoben und injiziert. Die Erythrocyten wurden in je 5 ccm Säugetierringerlösung aufgenommen, durchgeschüttelt, nochmals abzentrifugiert, sodann die überstehende Ringerlösung abgegossen. Nun wurden die Erythrocyten mit 5 ccm frischer Ringerlösung versetzt, geschüttelt und injiziert.

II. Von der Plasmablutlösung des dritten Glases wurde das überstehende Plasma abgehoben und injiziert, die während des 24stündigen Stehens sedimentierten Erythrocyten in 5,5 ccm Ringerlösung aufgenommen und injiziert.

Fünfter Versuch. Zwei Zylindergläser mit je 4 ccm Plasma 29%igen parasitenreichen Citratblutes, von dem 1,7 ccm nach intravenöser Injektion eine Malaria zu erzeugen vermochten, wurden mit 4 ccm gesunden Hühnerblutes versetzt und 24 Stunden wie in den vorhergehenden Versuchen aufbewahrt. Darauf wurden die Plasma-Blut-Lösungen geschüttelt und zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde nun abgehoben, und je einem Hahn intravenös injiziert. Es erwies sich nur in einem Fall als infektiös. Die sedimentierten, mit Säugetierringerlösung gewaschenen und dann wieder in Säugetierlösung aufgenommenen Erythrocyten vermochten in keinem der beiden Fälle nach intravenöser Injektion eine Infektion zu erzeugen.

Die Annahme, daß die Erythrocyten die Parasiten dadurch lebend erhielten, daß sie diesen einen mechanischen Schutz böten, ist also nicht haltbar. Das Plasma der gestandenen Plasma-Blut-Lösung war in 4 von 5 Fällen, die Erythrocyten dagegen nur in 3 von 5 Fällen infektiös. Am wahrscheinlichsten ist, daß die Erythrocyten den Sauerstoffgehalt der Lösung erhöhen und dadurch die Lebensbedingungen der Parasiten, die ja nach den Untersuchungen Christophers und Fultons[23, 25] Sauerstoff verbrauchen, verbessern.

Hingewiesen sei noch darauf, daß im Plasma malariakranker Tiere Immunstoffe nachgewiesen werden konnten. Bei mit Pl. cathemerium infizierten Kanarienvögeln konnten das Hegner und Dobler[26] zeigen.

[26] Hegner u. Dobler: Amer. J. Hyg. **30**, Nr. 3, Sec. c, S. 81 (1939).

Genauere Untersuchungen über Immunkörperbildung bei Malaria wurden von Coggeshall, Eaton und Kumm[27] angestellt. Ihr Studienobjekt waren mit Pl. knowlesi chronisch infizierte Rhesusaffen, in deren Serum die genannten Autoren verschiedene Immunkörper nachzuweisen vermochten. Sie zeigten u. a., daß die Wirksamkeit der Immunkörper direkt proportional der Menge des injizierten wirksamen Serums ist. Bei den eben geschilderten Versuchen mit Pl. gall. waren in dem einen Fall (Plasma ohne Blutzusatz) die Parasiten den gesamten in dem Plasma vorhandenen Immunstoffen ausgesetzt, in dem anderen Fall (Plasma + gesundes Blut) war das immunkörperhaltige Plasma mit dem Plasma des gesunden Blutes verdünnt. Spielen die Immunstoffe des Plasmas bei der Hühnermalaria eine nennenswerte Rolle, dann waren die Parasiten in der Plasma-Blut-Lösung in besserer Lage als die in dem unverdünnten Plasma.

Zusammenfassung.

1. Wenige Minuten nach intramuskulärer Injektion parasitenreichen Blutes sind in dem Blut des intramuskulär geimpften Tieres Parasiten nachweisbar.

2. Eine sehr schwache intravenöse Impfung mit Malariablut erzeugt dieselbe Erkrankung wie eine intramuskuläre Impfung beliebiger Stärke.

3. Intravenös injizierte Parasiten vermögen sich in ihrem neuen Wirt direkt weiterzuentwickeln. Die einzelnen Entwicklungsstadien der Plasmodien sind jedoch gegenüber diesem Wirtswechsel verschieden empfindlich. Am empfindlichsten sind die älteren vegetativen Stadien (die kurz vor der Sporulation stehenden und die sporulierenden Schizonten).

4. Bei zweistündlicher Kontrolle der Blutinfektion während mehrerer Tage konnte ein reiner Cyklus nicht beobachtet werden. Bestenfalls stellte eine Entwicklungsform 70% der vorhandenen Parasiten eines Ausstrichs.

5. Chronisch infizierte Tiere zeigen auch gegenüber starker intravenöser Infektion eine ausgesprochene Immunität. Eine geringe Vermehrung der intravenös injizierten Parasiten konnte nur bei fünf von 32 Tieren sicher festgestellt werden, doch kam es auch bei diesen 5 Tieren nicht zu einem typischen akuten Anfall.

6. EE-Formen konnten bei chronisch infizierten Tieren zwischen dem 10. und 74. Tage nach starker intravenöser Superinfektion nicht nachgewiesen werden.

7. Blut von Hähnen, die eine Impfmalaria durchgemacht haben, bleibt auch, wenn es bis zu $1^1/_2$ Jahren nach der Infektion entnommen

[27] Zitiert nach Boyd u. Coggeshall: Trans. of the Third International Kongress of Trop. Med. and Malaria **2** (1938).

wird, infektiös. Mit 0,05 ccm Blut solcher Tiere konnte bei gesunden Tieren eine Malaria erzeugt werden.

8. Parasitenreiches Citratblut behält in vitro bei Zimmertemperatur seine Infektiosität mindestens 4 Tage lang. Die Anzahl der in dem Blute am Leben bleibenden Parasiten verringert sich jedoch kontinuierlich.

9. Plasma parasitenreichen Citratblutes verliert seine Infektiosität, wenn es 24 Stunden bei Zimmertemperatur steht. Ist diesem Plasma Blut eines gesunden Huhnes zugesetzt, so behält es, unter den gleichen Bedingungen 24 Stunden aufbewahrt, seine Infektiosität.

10. Die konservierende Wirkung des gesunden Hühnerblutes hängt nicht damit zusammen, daß die Erythrocyten den Parasiten einen mechanischen Schutz bieten. Wahrscheinlich spielt der Sauerstoff, der durch Vermittlung von Hämoglobin zugeführt wird, dabei die entscheidende Rolle.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. S. Janssen.)

Follikelhormon und Blutbild.

Experimentelle Untersuchungen zur innersekretorischen Regulation der Blutbildung.

Von

Oswald Feuchtinger.

(Eingegangen am 12. Oktober 1940.)

Schon im letzten Jahrhundert wurde auf Beziehungen zwischen der Tätigkeit der sogenannten Blutdrüsen und der normalen und pathologischen Zusammensetzung des Blutes aufmerksam gemacht. Über die Versorgung des Knochenmarks mit Nerven, deren Kenntnis auch heute noch mehr auf Vermutungen als Beobachtungen beruht [1], war nur wenig bekannt, und so sprach man damals schon von einer humoralen Wirkung gewisser Blutdrüsen auf die Blutbildungsstätten. Aber erst der Begriff der „internen Sekretion" gab die Grundlage zur näheren Untersuchung der bis dahin rein hypothetischen Beziehungen zwischen Hormonen und Blut.

Aus der Klinik wurde nun vor allem über die Wirkung der Schilddrüse sowie der Keimdrüsen auf die Blutzusammensetzung berichtet. Während aber die Beziehungen der Schilddrüse zur Blutbildung bis heute weiter verfolgt wurden, sind die alten Beobachtungen über den Einfluß der Geschlechtsdrüsen größtenteils wieder in Vergessenheit geraten. Die experimentellen Untersuchungen beschränkten sich auf die Feststellung von Kastrationsanämien bei den verschiedensten Tierarten [2]), die Erzeugung einer Erythrocytose durch Ovarialpreßsäfte oder Ovarialextrakte bei weiblichen Kaninchen [3]) und Hündinnen [4]), die Beeinflussung

[1] Stöhr: Handb. d. mikroskop. Anat. d. Menschen. Herausgeb. W. Möllendorf. S. 149. Berlin, Verlag Jul. Springer, 1928. — [2] Pinzani: Arch. ital. di Gin. Napoli **1898**, 571; Monari: La clorosi, Studio clinico-anatomico. Modena **1900**; Storch: Inaug.-Diss. Karlsruhe **1901**; Lüthje: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **48**, 184 (1902); Breuer u. Seiller: Ebenda **50**, 169 (1903); Wien. klin. Wschr. **1903**; Sustschowa: Arch. Anat. u. Physiol. **1910**, 97; Adler: Arch. Gynäk. **95**, 349 (1912); Antonelli: Il Policlinico **21**, 97; Truffi: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **2**, 836; Ocaranza: Rev. Mex. biol. **2**, 219 (1922); v. Falkenhausen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **103**, 127 (1924); Blacher: Biol.Gen. **2**, 4`5 (1926); Denecke: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1927**, 324; Molteni: Hämatologica **10**, 517 (1929); Jalowy: C. r. Soc. Biol. Paris **112** (1933); Bablik: Münch. med. Wschr. **1935**, 1679; Swetosarow u. Streich: Fiziol. Ž. **21**, 613 (1936). — [3] Rondino: Giorn. dell'assoc. dei medici nat. Napoli **1901**; Jber. Geburtsh. **15**, 266 (1902); Minouchi u. Schwalm: Klin. Wschr. **1934**, 1565; Pölzl: Wien. klin. Wschr. **1910**, 238. — [4] Breuer u. Seiller: l. c. 2; Denecke: l. c. 2.

der Erythrocytenregeneration [5], der Phagocytosefähigkeit der Leukocyten [6], der Blutgerinnungs- und Blutungszeit [7] durch Follikulin. Außerdem konnten beim Meerschweinchen durch Unterbindung der Blutzufuhr zum Ovar von den Geschlechtsdrüsen ausgehende, die Erythrocytenbildung und -regeneration stimulierende Stoffe nachgewiesen werden [8]. Schließlich haben in neuester Zeit Holtz und Mitarbeiter [9] mit hohen Dosen von Follikelhormon beim Hund ein Vergiftungsbild nach Art einer hämorrhagischen Diathese mit einer Hemmung der gesamten Knochenmarkstätigkeit erzeugt. Ähnliche Veränderungen wie beim Hund sah Grumbrecht [10] nach längerer Verabreichung des Hormons auch bei Ratten.

Eigene Versuche.

Die aus dem Schrifttum ersichtlichen experimentellen Untersuchungen reichen nicht aus, um die von der Klinik seit langem vermuteten Zusammenhänge zwischen Blutbildung und innerer Sekretion der Keimdrüsen im einzelnen zu erklären. Die Versuche, welche lange vor der Reingewinnung des Follikelhormons mit Ovarialsubstanz gemacht wurden, geben keine Auskunft über die quantitativen Verhältnisse und über die Natur der in Betracht kommenden Wirkstoffe. Mit den reinen Wirkstoffen wurden wiederum nur Versuche mit unphysiologisch hohen Dosen durchgeführt. Ebenso fehlen Untersuchungen am Menschen mit physiologischen Mengen des Hormons.

Um die quantitativen Beziehungen zu klären, haben wir zunächst die physiologischen Verhältnisse während des Oestrus der Ratte untersucht. Zur Bestimmung des wirksamen, die Hämatopöese regulierenden Prinzips wurden anschließend verschiedenen Tierarten und weiblichen Versuchspersonen physiologische Mengen reinen Follikelhormons künstlich zugeführt und die Veränderungen des Blutbildes sowie der Blutungs- und Blutgerinnungszeit registriert. Außerdem wiederholten wir die Versuche von Holtz und Mitarbeitern sowie von Grumbrecht mit hohen Sexualhormondosen am Hund und an der Ratte und bestimmten die prophylaktische Wirkung von Leber und Eisen. Der Einfluß der Unterfunktion des Ovars wurde in Kastrationsversuchen an der Ratte und am Kaninchen geprüft.

[5] v. Falkenhausen: l. c. 2; Minouchi u. Schwalm: l. c. 3. — [6] Bierstein u. Rabinovitch: Klin. Wschr. **1925**, 2013. — [7] Bablik: l. c. 2; Druckrey: Endokrinologie **12** (1933); Saviano: Ormone follicolare e coagulazione del sangue Neapel **1935**; Vignali: Monit. ostetr.-ginec. **1936**, 421; Adler: l. c. 2. — [8] Pirous: Z. klin. Med. **118**, H. 1 u. 2; Schwarzhoff: Z. exper. Med **1936**, 214. — [9] Holtz u. Mitarbeiter: Naturwissensch. **1936**, 17; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 1 (1937); Balo u. Purjesz: Klin. Wschr. **1937**, 1150; Bareuther u. Schabbel: Klin. Wschr. **1937**, 1677. — [10] Grumbrecht: Arch. Gynäk. **170**, H. 1; Arnold, Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 356 (1938).

A. Methodik.

Unsere Untersuchungen wurden an weiblichen Ratten, Kaninchen und Hunden (darunter ein männlicher) ausgeführt. Außerdem wurden weitere Untersuchungen an normalen weiblichen Versuchspersonen, die sich freiwillig zur Verfügung stellten, unternommen.

Die Ratten erhielten folgende konstante Kost ad libitum: 1400 g Maismehl, 100 g Trockenmilch, 1000 g Kochfett, 150 g Trockenhefe, 30 g Salz nach McCollum, 40 g Lebertran, das Ganze zu einem Kuchen gebacken. Die Kaninchen erhielten Rüben, die Hunde normale Klinikkost wie der Mensch.

In allen Versuchen mit intraperitonealer, subcutaner und intramuskulärer Injektion wurde Oestradiolmonobenzoat in öliger Lösung (Progynon B oleosum) verwendet*. Als Verdünnungsmittel diente Sesamöl. Zur intravenösen Zufuhr wurde Oestradiol in wässeriger Lösung benutzt. Die Injektionen wurden bei Ratten intraperitoneal und subcutan, bei Kaninchen intraperitoneal und intravenös, beim Hund und beim Menschen intramuskulär verabreicht.

Das zu untersuchende Blut wurde bei der Ratte aus der Schwanzvene, beim Kaninchen aus dem Ohr, beim Hund aus der V. saphena, beim Menschen aus der Fingerbeere entnommen. Das Hämoglobin wurde nach Sahli bestimmt. Die Zählung der roten und weißen Blutkörperchen sowie die Auszählung des weißen Differentialblutbildes erfolgte nach dem in der Klinik üblichen Vorgehen. Die Retikulocyten wurden in der Zählkammer nach der Methode von Frank, modifiziert von Kämmerer[11]), die Thrombocyten in der Zählkammer nach Flössner-Hofmann[12] gezählt. Die Bestimmung der Blutgerinnungszeit erfolgte nach Bürker[13], der Blutungszeit nach Duke[14]. Die Untersuchungen wurden im Sommer und Winter der Jahre 1939/40 durchgeführt.

B. Untersuchungen an der Ratte.

α) Oestrus und Blutbild.

Nach den Ergebnissen von Pirous und Schwarzhoff[15] über das Auftreten einer Knochenmarksreizung nach mehrstündiger Unterbindung der Blutzufuhr zum Ovar und den alten Angaben, daß die Injektion von Ovarialsubstanz die Erythrocytenzahl erhöht, erhob sich zunächst die Frage, ob während des Oestrus, also zur Zeit erhöhter Follikelhormonproduktion, bei der Ratte eine Vermehrung der Erythrocytenzahl und des Hämoglobins stattfindet. Es ist bekannt, daß die Werte für die Erythrocyten bei den kleinsten Nagetieren stark schwanken[16]). Wir können nunmehr zeigen, daß dieses Schwanken der Zahl der roten Blutkörperchen bei jedem einzelnen weiblichen Tier von den cyclischen Eireifungsvorgängen abhängt. Über diese Verhältnisse gibt Tabelle 1 Auskunft. Danach steigt bei

[11] Frank: Med. Klin. **1931**, Nr. 12; Kämmerer: Münch. med. Wschr. **1932**, 308. — [12] Flössner-Hofmann: Z. Biol. **1922**, 77. — [13] Bürker: Pflügers Arch. **118**, 452 (1907); **149**, 318 (1912). — [14] Duke: J. Amer. med. Assoc. **15**, 1125 (1912); John Hopk. Hosp. bull. **23**, Nr. 225 (1912). — [15] Pirous: l. c. 8; Schwarzhoff: l. c. 8. — [16] Klieneberger: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. Leipzig 1927; Kollath u. Giesecke: Klin. Wschr. **1933**, 231.

* Ich danke an dieser Stelle der Schering-Kahlbaum A.-G., die uns einen Teil der benötigten Versuchsmengen zur Verfügung stellte.

jeder Ratte bei normaler Cyclusfolge (Tier Nr. 1—4) die Erythrocytenzahl und mitunter auch das Hämoglobin während des Oestrus an. Ein besonders eindrucksvolles Beispiel ist Tier Nr. 1. Der Anstieg beginnt im Prooestrus und erreicht seinen Gipfel auf der Höhe des Oestrus, um dann im Met- und Dioestrus wieder abzusinken. Auf der Höhe des Oestrus treten vereinzelt Normoblasten auf. Der An- und Abstieg der Erythrocyten verläuft also bei regelmäßigem Cyclus vollkommen parallel mit den Umbildungsvorgängen in Uterus und Scheide, d. h. mit der cyclischen Vermehrung des Sexualhormons im Blute.

Ist der Cyclus unregelmäßig, so treten auch Verschiebungen und Unregelmäßigkeiten im Blutbild ein. Jedoch sind die Verhältnisse so, daß das Knochenmark bei gehäuft auftretendem Oestrus, d. h. kurzdauerndem Di-, Pro- und Metoestrus nicht sofort auf jede neue Follikelhormonvermehrung mit einem neuerlichen Erythrocytenanstieg reagiert. Dieses behält vielmehr seine periodischen Schwankungen bei und spricht erst dann wieder auf einen Reiz an, wenn das periphere Blutbild niedere, einem Dioestrus des regelmäßigen Cyclus entsprechende Erythrocytenzahlen aufweist. Das Knochenmark reagiert also jeweils nur auf einen Reiz und ist während dieser Zeit bis zum Abschluß der Reaktion für andere Reize unempfindlich. So kommt es, daß man während eines Oestrus niedere Erythrocytenwerte, welche normalerweise einem Dioestrus entsprechen sollten, beobachten kann (Tier Nr. 5: 5. Tag, Tier Nr. 6: 1., 5. und 6. Tag). Die Zahl der roten Blutkörperchen nimmt ab, obwohl der neue Reiz des vermehrten Follikelhormons bereits wieder wirksam sein müßte. Erst wenn der sonst einem Dioestrus entsprechende niedrigste Erythrocytenwert erreicht ist, und der neue Oestrus inzwischen immer noch besteht, spricht das Knochenmark wieder auf diesen neuen Reiz an, so daß jetzt der Höhepunkt der Erythrocytenausschüttung in den letzten Teil des Oestrus oder den Metoestrus fällt (Tier Nr. 5: 6. und 7. Tag, Tier Nr. 6: 2. und 7. Tag). Ist der während des Absinkens der Erythrocytenzahl auftretende Oestrus vor der Erreichung des tiefsten Punktes der Zahl der roten Blutkörperchen schon abgeklungen, also schon wieder von einem Metoestrus abgelöst, so kann sich dessen Reizwirkung nach dem oben Gesagten überhaupt nicht mehr auf das Knochenmark auswirken (Tier Nr. 5: 9., 10. und 11. Tag). Erst beim nächsten darauffolgenden Oestrus steigt dann die Erythrocytenzahl wieder an. Dieses sogenannte refraktäre Verhalten des Knochenmarks, das man auch als vorübergehende Gewöhnung bezeichnen kann, ist eine Erscheinung, die uns bei der künstlichen Zufuhr von Follikelhormon bei der Ratte, beim Kaninchen und auch beim Menschen wieder begegnen wird.

Die Zahl der Leukocyten schwankt erheblich, aber gegenüber den Erythrocyten ohne jede Periodizität. Zu berücksichtigen ist dabei, daß die Gesamtleukocytenzahl bei der Ratte schon im Verlauf von Stunden

Tabelle 1. Normale weib

Tier	1			2			3			4			5		
Nr.	S	Hb	E	S	Hb	E	S	Hb	E	S	Hb	E	S	Hb	E
1	±	70	8,09	—	70	8,20	(+)	70	8,62	+	80	9,50	±	70	8,5
2	—	70	8,02				+	70	9,26	±	70	8,10	±	70	8,4
3	±	70	8,53	±	70	8,43	(+)	70	8,66	±	70	9,50	—	80	8,2
4	(+)	75	8,46	+	80	9,04				±	75	8,13	—	75	7,6
5	(+)	70	8,60	±	65	8,46	±	70	8,23				+	65	7,0
6	+	70	7,83	+	70	9,04				±	70	8,50	(+)	65	8,3

S = Scheidenabstrich, (+) = Prooestrus, + = Oestrus, ± = Metoestrus, — = Dioestru

um 5000—10000 differieren kann und auch weitgehend von der Nahrungsaufnahme abhängig ist.

Fehlerberechnung. Errechnet man bei den ersten vier Tieren der Tabelle 1, welche einen normalen Oestrus haben, aus allen Erythrocytenzahlen während des Dioestrus den durchschnittlichen Erythrocytenwert, so ergibt sich eine Zahl von 8,01 Millionen. Demgegenüber beträgt der Durchschnittswert aus allen Erythrocytenzahlen während des Oestrus 9,09 Millionen. Die Differenz beträgt also 1,08 Millionen. Nach der Formel $\mu = \sqrt{\mu_1^2 + \mu_2^2}$ [17] beträgt der mittlere Fehler der Differenz ± 169000, die Differenz selbst also das etwa Sechsfache des mittleren Fehlers, das bedeutet nach der von der Formel $\Phi(t) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^t e^{-u^2} du$ abgeleiteten Tabelle, daß der Unterschied mit einer Wahrscheinlichkeit von 99,9% nicht auf zufälligen Schwankungen beruht, die in beiden Reihen in ungleichem Maße zur Geltung gekommen sind.

Wendet man dieselbe Berechnung auf das Hämoglobin an, so ergibt sich für den Dioestrus ein Durchschnittswert von 73%, den Oestrus ein Durchschnitt von 78%, somit ein Unterschied von 5%, der mittlere Fehler der Differenz beträgt ± 2,4, also etwa die Hälfte der Differenz selbst. Demnach liegt die vermeintliche Steigerung des Blutfarbstoffgehaltes gerade noch im Bereiche der Fehlergrenze. Die Bestimmung der wirklichen Verhältnisse erfordert für das Hämoglobin eine größere Tierzahl.

β) Kurzversuche mit Progynon an normalen und schwangeren Tieren.

In zahlreichen Vorversuchen machten wir die Erfahrung, daß man mit einmaligen „Hormonstößen" konstante Blutveränderungen nicht erzielen kann. Ahmt man dagegen die natürlichen Verhältnisse nach, indem man durch häufige Injektionen kleiner Dosen innerhalb eines kurzen Zeitraums oder auch durch weniger häufige Injektionen großer Dosen des Esters während einer längeren Zeit einen kurz- oder langdauernden Hormonfluß erzeugt, so erhält man bei allen Tierarten regelmäßig auftretende charakteristische Blutveränderungen. Wir verteilten in den Kurzversuchen die Gesamt-

[17] Czuber-Burkhardt: Statistische Forschungsmethoden. Wien 1938.

che Ratten. 80—120 g.

6			7			8			9			10			11		
S	Hb	E	S	Hb	E	S	Hb	E	S	Hb	E	S	Hb	E	S	Hb	E
–	70	8,05	+	80	9,11				–	75	7,92						
			+	80	8,55	±	75	8,61				–	75	8,03	(+)	75	8,30
–	70	7,95															
			(+)	75	8,75												
+	70	8,63	±	75	8,75				+	70	8,21	±	75	8,33	±	70	7,17
+	60	8,35	+	70	9,08	±	70	8,66									

b = Hämoglobin in % nach Sahli, E = Erythrocyten in Millionen.

dosis auf 9 Injektionen innerhalb von 3 Tagen, und zwar so, daß an jedem Tage je einmal morgens (9 Uhr), mittags (14 Uhr) und abends (19 Uhr) injiziert wurde. Das Zustandekommen eines derartigen Hormonflusses wurde durch die Verwendung des Esters unterstützt.

Verteilten wir eine Gesamtdosis von 4.5 γ in 9 Injektionen auf 3 Tage, so erhielten wir am 8. Tage nach Injektionsbeginn bei allen Tieren eine Erythrocytose, d. h. ein durchschnittliches Ansteigen der Erythrocytenzahl um 1,15 Millionen und außerdem eine Vermehrung des Hämoglobins um durchschnittlich 9%. Einige Tage später war das rote Blutbild wieder zur Norm zurückgekehrt (vgl. Tabelle 2, oben).

Fehlerberechnung. Durchschnittliche Erythrocytenzahl 1 Tag vor Injektionsbeginn: 8,42 Millionen, am 8. Tage nach Injektionsbeginn: 9,59 Millionen, Unterschied: 1,17 Millionen, mittlerer Fehler der Differenz: ± 285000, Wahrscheinlichkeit: 99,9%.

Durchschnittswert für Hämoglobin am Tage vor Injektionsbeginn: 73%, am 8. Tage nach Injektionsbeginn: 82%, Unterschied: 9%, mittlerer Fehler der Differenz: ± 3,24, Wahrscheinlichkeit: 99,7%.

Die Leukocyten verhalten sich wechselnd, sind eher vermehrt als vermindert, im weißen Differentialblutbild (vgl. Tabelle 3, oben) treten außer einer vorübergehenden geringen Lymphocytose oder Lymphopenie und einer geringgradigen Linksverschiebung keine Besonderheiten auf.

Wird die Gesamtdosis von 4,5 γ auf 9 γ verdoppelt (vgl. Tabelle 2, Mitte), so zeigt sich nur noch bei einem von 5 Tieren eine Polycythämie (Tier Nr. 13 am 6. Tag), während bei allen übrigen schon am 4. Tage ein Absinken der Erythrocytenwerte und des Hämoglobins zu beobachten ist. Bei 3 Tieren (Tiere Nr. 14, 15 und 16) war diese Anämie am 8. Tage behoben, bei 1 Tier aber am 19. Tage noch nicht abgeklungen (Tier Nr. 12). Es ist bemerkenswert, daß gerade bei diesem Tier der künstliche Oestrus bis zum 18. Tage andauerte, während er bei allen anderen Rattenbereits am 13. Tage in den Metoestrus übergegangen war.

Fehlerberechnung. Durchschnittswert der Erythrocytenzahlen vor Injektionsbeginn: 8,89 Millionen, am 4. Tage nach Injektionsbeginn: 7,68 Millionen, Unterschied: 1,21 Millionen, mittlerer Fehler der Differenz: ± 428000, Wahrschein-

Tabelle 2. Normale und schwangere (*) weibliche Ratten. 80—120 g. Drein

Tier	1 Tag vor Injektionsbeginn			4			6			7			8		
Nr.	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L
7	70	8,78	35 800	75	8,55	26 500	80	8,95	29 500	—	—	—	80	10,28	24 3
8	85	8,85	24 800	85	8,85	25 600	80	9,03	21 400	—	—	—	85	9,85	24 6
9	70	8,40	31 500	80	8,25	21 000	75	8,88	29 500	—	—	—	80	9,52	41 5
10	70	8,09	32 300	70	7,60	23 000	70	7,90	21 100	—	—	—	80	9,35	23 0
11	70	7,98	23 800	75	8,70	32 000	70	8,25	29 300	—	—	—	85	8,96	28 5
12	80	9,00	31 200	55	7,45	31 000	60	8,25	37 000	—	—	—	70	7,33	29 9
13	80	8,82	26 900	80	9,05	29 500	80	10,15	27 400	—	—	—	75	8,50	33 4
14	70	8,25	25 000	55	6,78	21 900	70	7,55	17 200	—	—	—	75	8,61	20 3
15	70	8,90	31 000	65	7,80	28 500	70	9,10	35 100	—	—	—	70	9,01	22 8
16	70	9,48	35 200	65	7,31	35 300	65	8,81	42 000	—	—	—	70	9,10	24 9
17	75	8,75	23 000	—	—	—	70	8,60	21 400	70	7,70	26 400	80	10,36	14 4
18	70	8,88	25 400	—	—	—	60	7,53	16 900	65	7,33	25 200	70	9,30	24 9
19	75	8,51	16 100	—	—	—	60	7,33	15 900	60	7,17	13 800	70	9,31	14 8
20	80	8,15	23 200	—	—	—	70	7,62	17 400	50	5,90	16 400	55	4,94	25 3
21	70	8,40	13 300	—	—	—	60	7,53	23 800	60	8,18	20 000	70	8,00	22 8
22	65	8,32	21 000	—	—	—	65	6,70	21 400	60	6,82	24 300	—	—	—
23	65	7,17	30 000	—	—	—	65	7,42	45 800	55	6,19	36 600	—	—	—
24	60	7,66	20 000	—	—	—	55	5,48	21 400	60	6,69	15 300	—	—	—
25*	70	7,18	18 000	—	—	—	60	7,00	15 100	65	7,20	14 300	60	6,35	14 1
26*	70	7,57	13 300	—	—	—	60	6,45	12 500	65	6,97	11 400	70	8,03	16 0

L = Leukocyten. Tier Nr. 25 w

Tabelle 3. Normale weibliche Ratten. 80—120

Tier	1 Tag vor Injektionsbeginn					4					5					6			
Nr.	Sg	Ly	Es	M	St	Sg	Ly	Es	M	St	Sg	Ly	Es	M	St	Sg	Ly	Es	M
7	27	72	—	—	1	17	82	1	—	—	22	77	—	—	1	22	76	2	—
8	29	70	1	—	—	37	58	3	—	2	28	67	3	—	2	23	74	2	1
9	27	72	—	—	1	13	86	1	—	—	29	65	—	4	2	10	90	—	—
12	15	85	—	—	—	9	90	—	—	1	—	—	—	—	—	25	68	2	—
13	23	77	—	—	—	18	79	1	2	—	—	—	—	—	—	33	62	1	—
14	27	73	—	—	—	15	82	3	—	—	—	—	—	—	—	17	83	—	—
17	26	70	4	—	—	—	—	—	—	—	33	59	2	—	6	38	55	2	—
18	15	82	2	—	1	—	—	—	—	—	21	76	2	—	1	19	77	4	—
19	28	69	—	—	3	—	—	—	—	—	53	43	1	—	3	48	49	1	—

Sg = Segmentkernige Leukocyten, Ly = Lymphocyten, Es = Eosinoph

lichkeit: 99,7%. Der höhere mittlere Fehler zeigt an, daß es sich bei dieser Gruppe um ein Übergangsstadium handelt.

Durchschnittswert des Hämoglobins vor Injektionsbeginn: 74%, am 4. Tage nach Injektionsbeginn: 64%, Unterschied: 10%, mittlerer Fehler der Differenz: ± 5,2. Die Differenz beträgt das Zweifache des mittleren Fehlers. Auch hier zeigt der hohe mittlere Fehler der Differenz an, daß wir es mit einem Übergangsstadium zu tun haben.

glich 3 Tage lang je $^1/_2$—2 γ Oestradiolmonobenzoat i. p. (= intraperitoneal).

ch Injektionsbeginn															Gesamtdosis
11			13			15			19			25			
b	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	γ
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
0	8,20	32 800	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4,5
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
–	–	–	65	7,00	30 900	–	–	–	65	6,79	32 300	–	–	–	
		–	–	–				–			–		–		
		–	–	–				–			–		–		9
	–				–	–		–	–	–	–	–			
–	–		–	–	–	–	–	–					–		
5	9,59	20 200	70	8,51	16 800	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
0	9,60	20 300	70	9,00	18 500	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
5	6,50	15 300	70	7,44	18 200	70	7,59	13 400	–	–	–	80	7,81	12 100	
0	6,38	13 300	60	6,60	12 100	75	7,50	16 400	–	–	–	85	8,46	13 700	
5	8,60	18 900	65	8,59	15 200	–	–								
5	6,35	24 300	65	5,65	26 500	60	6,10	11 000	75	7,15	17 800	70	7,83	15 200	18
5	7,42	35 400	65	6,83	34 900	60	7,87	31 200	65	7,02	28 000				
	6,74	24 300	65	6,89	22 700	60	6,79	20 800	60	6,44	29 000	80	7,38	25 500	
	5,97	23 200	50	4,28	24 300	50	5,57	20 500	–	–	–	75	7,52	11 100	
0	6,25	23 500	65	7,18	12 800	70	7,38	14 700	–	–	–	–	–	–	

n 12.. Tier Nr. 26 am 8. Tag.

sierung wie in Tabelle 2.

ch Injektionsbeginn																				Gesamtdosis
7					8					11					25					
Ly	Es	M	St	Sg	Ly	Es	M	St	Sg	Ly	Es	M	St	Sg	Ly	Es	M	St	γ
–	–	–	–	21	74	1	–	4	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
–	–	–	–	18	78	–	1	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4,5
–	–	–	–	16	81	1	1	1	–	–	–	–	–						
		–	–	14	85	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
–	–	–	–	19	79	1	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	9
–	–	–	–	17	82	–	–	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
53	1	–	5	42	49	5	1	3	33	63	3	–	1	32	66	2	–	–	
64	2	–	2	46	48	5	–	1	34	66	–	–	–	24	75	1	–	–	18
46	2		3	54	39	1	1	5	45	49	5		1	35	62	1	1	1	

Leukocyten, M = Monocyten, St = Stabkernige Leukocyten.

Berechnen wir die Tiere, welche mit einer Anämie reagiert hatten (Tiere Nr. 12, 14, 15 und 16) für sich, so ergibt sich folgendes:

Durchschnittswert der Erythrocytenzahlen vor Injektionsbeginn: 8,91 Millionen, am 4. Tage danach: 7,33 Millionen, Unterschied: 1,58 Millionen, mittlerer Fehler: $\pm$ 330000, Wahrscheinlichkeit: 99,9%.

Hämoglobin: Durchschnittswert vor Injektionsbeginn: 72%, am 4. Tage danach: 60%, Unterschied: 12%, mittlerer Fehler der Differenz: $\pm$ 3,8, Wahrscheinlichkeit: 99,7%.

Tabelle 4. Kastrierte weibli

Dreimal täglich 3 Tage lang je $^1/_2$—2 γ Oestradiolmonobenzoat i. p. Tiere Nr. 27–
Tier Nr. 36 seit 12 Tagen kastriert. *Tiere Nr. 31, 32, 33 und 35 wurden 4 Woc

Tier	1 Tag vor Injektionsbeginn			2			3			4			5			Ta
Nr.	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	
27	70	9,47	23 200	80	9,12	26 800	—	—	—	75	9,20	32 400	85	8,50	27 9	
28	75	9,30	21 700	80	8,77	17 000	—	—	—	75	8,90	30 600	70	8,67	20 9	
29	70	9,31	16 800	70	9,05	15 900	—	—	—	75	9,80	18 800	70	9,86	16 9	
30	70	7,25	20 800	70	8,20	17 100	—	—	—	70	8,54	18 000	70	9,41	18 5	
31	80	9,05	27 600	—	—	—	80	8,26	22 100	—	—	—	70	8,59	17 6	
32	75	8,93	21 500	—	—	—	80	9,03	19 100	—	—	—	70	8,20	14 5	
33	80	9,28	23 200	—	—	—	75	7,97	17 000	—	—	—	65	8,47	18 9	
34	75	8,19	20 700	—	—	—	75	8,17	21 400	—	—	—	65	8,39	19 5	
35	80	9,85	26 900	—	—	—	75	9,25	11 500	—	—	—	70	7,60	18 6	
31*	80	8,66	17 300	—	—	—	65	7,86	18 000	75	7,31	13 600	70	8,07	12 2	
32*	75	9,28	23 400	—	—	—	70	8,37	14 600	70	7,60	11 800	55	5,33	14 0	
33*	75	8,75	15 200	—	—	—	70	7,92	10 200	70	7,47	14 400	70	7,77	18 3	
35*	85	8,93	23 700	—	—	—	70	8,18	14 300	65	7,70	13 600	60	6,47	15 4	
36	60	8,13	17 300	—	—	—	55	6,33	11 800	60	6,48	15 300	60	7,81	19 9	

Die Gesamtleukocytenzahl verhält sich wechselnd, das weiße Differentialblutbild neigt zu einer Lymphopenie, die Linksverschiebung ist bei 2 Tieren ausgesprochen, bei 1 Tier fehlt sie (vgl. Tabelle 3, Mitte).

Erhöht man die Dosis von 9 γ nochmals auf das Doppelte (vgl. Tabelle 2, unten), so erhält man bei allen Tieren eine Anämie, die bei den meisten am 5.—6. Tage (Tiere Nr. 18, 19, 21, 22, 24, 26), bei den übrigen am 7. Tage deutlich ausgeprägt ist. Bei einigen Tieren setzt die Regeneration bereits am 8. Tage wieder ein (Tiere Nr. 17, 18, 19, 21, 26) und geht teilweise über das Normalmaß hinaus (Tiere Nr. 17 und 19 am 8. Tage, Tier Nr. 18 am 11. Tage), um dann wieder auf die Norm abzusinken. Bei manchen Tieren dieser Gruppe ist jedoch die Regeneration zunächst keine bleibende, die Zahl der roten Blutkörperchen sinkt nochmals auf unter der Norm liegende Werte herab, dann erst erholt sich das Blutbild, diesmal allmählich, bis es endgültig normale Werte erreicht (Tier Nr. 19: 11. Tag). Bei Ratten, welche mit sehr starken Anämien reagiert hatten, setzt die Erholung von vornherein protrahiert ein und ist bei einzelnen erst am 27. Tage erreicht (Tiere Nr. 22 und 24). Schwangere Tiere verhalten sich grundsätzlich gleich, bei ihnen wird die Regeneration nur durch das Werfen, welches eine erneute Anämie zur Folge hat, verzögert (Tiere Nr. 25 und 26). Das Hämoglobin verhält sich entsprechend der Erythrocytenzahl.

Fehlerberechnung. Erythrocyten: Durchschnittswert am Tage vor Injektionsbeginn: 8,06 Millionen, am 7. Tage danach: 7,01 Millionen, Unterschied: 1,05 Millionen, mittlerer Fehler der Differenz: $\pm$ 290000, Wahrscheinlichkeit: 99,7—99,9%.

atten. 80–120 g.

it 6 Monaten, Tiere Nr. 31 und 32 seit 2 Monaten, Tiere Nr. 33, 34 und 35 infantil. ach Beendigung des ersten Versuchs (9 γ) nochmals verwendet (18 γ).

ach Injektionsbeginn															Gesamtdosis
6			7			8			11			15			
Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	γ
75	9,30	33 500	75	9,02	25 600	—	—	—	75	9,07	27 800	75	9,13	25 300	4,5
70	8,88	26 900	75	9,04	21 500	—		—	75	9,11	21 800	75	9,48	21 700	
70	8,62	30 300	70	8,93	29 700	—	—		—	—	—	—	—	—	
70	8,47	20 200	70	8,09	23 800	—	—	—	75	7,86	18 800	65	7,50	19 100	
70	8,88	15 300	75	8,85	13 700	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9
75	8,75	14 900	80	8,78	13 400	—						—	—		
70	8,83	18 200	75	9,89	19 300	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
70	8,92	11 900	75	8,96	16 200	—							—		
75	9,10	16 400	75	9,00	16 500	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
—	—	—	—	—	—	70	8,38	—	70	8,50	11 400	—	—	—	18
				—		70	6,23	11 900	65	7,52	11 700	75	7,85	11 800	
—	—	—	—	—	—	70	8,02	16 600	70	8,76	11 500	—	—	—	
	—			—		70	6,78	13 300	70	6,52	12 900	75	7,74	16 200	
—	—	—	—	—	—	65	7,50	14 500	65	7,87	25 200	65	7,81	20 500	

Hämoglobin: Durchschnittswert vor Injektionsbeginn: 70 %, am 7. Tage danach: 61 %, Unterschied: 9 %, mittlerer Fehler der Differenz: ± 2,55, Wahrscheinlichkeit: 99,7–99,9 %.

Die Gesamtleukocytenzahl schwankt innerhalb normaler Grenzen, im weißen Differentialblutbild tritt in allen Fällen eine Lymphopenie mit Linksverschiebung ein, die ebenfalls wieder zur Norm zurückkehrt (Tabelle 3, unten.)

γ) Kurzversuche mit Progynon an kastrierten Tieren.

Um nachzuweisen, inwieweit das Vorhandensein des Ovars für das Zustandekommen der beschriebenen Blutbildveränderungen von Bedeutung ist, haben wir dieselben Versuche mit denselben Dosen an Tieren, welche infantil, vor 12 Tagen oder 2–6 Monaten kastriert worden waren, wiederholt (vgl. Tabelle 4).

Bei einer Gesamtdosis von 4,5 γ erfolgte nur bei 1 von 4 vor 6 Monaten kastrierten Tieren eine Vermehrung der roten Blutkörperchen (Tier Nr. 30, Tabelle 4, oben). Bei den übrigen Tieren dieser Gruppe war bei einem Gleichbleiben des Hämoglobins ein Absinken der Erythrocytenzahl zu bemerken (Tiere Nr. 27 und 28 am 5. Tag, Tier Nr. 29 am 6. Tag).

Die Ausgangswerte der Erythrocytenzahlen sind bei den meisten länger als 1 Monat kastrierten Tieren gegenüber den Durchschnittswerten normaler Ratten erhöht (vgl. Fehlerberechnung). Diese Erscheinung ist, wie noch erörtert werden wird, als eine Kompensation gegen den Wegfall des normalerweise stimulierenden Einflusses der weiblichen Keimdrüsen aufzufassen. Nur bei 3 von 11 Tieren (Tiere Nr. 30, 34 und 36) lag der Ausgangswert um die Norm herum. Eins von diesen 3 Tieren

reagierte als einziges auf die Dosis von 4,5 γ mit einer Erythrocytose (Tier Nr. 30). Bei einem zweiten konnte auf die Dosis von 9 γ eine Anämie nicht festgestellt werden (Tier Nr. 34). Es ist anzunehmen, daß bei diesen zwei Tieren die Schädigung des Knochenmarks durch die Kastration (vgl. unten) noch nicht ausgebildet war. Das dritte Tier war erst 12 Tage vor Versuchsbeginn kastriert worden (Tier Nr. 36).

Das Auftreten einer Erythrocytopenie bei 75% der Tiere der ersten Gruppe (4.5 γ) weist uns auf eine erhöhte Empfindlichkeit kastrierter Ratten gegenüber den hemmenden Wirkungen des Follikelhormons, denn dieselben Mengen des Hormons erzeugen bei normalen Tieren in 100% der Fälle eine Erythrocytose. Ursache dieser veränderten Ansprechbarkeit ist die geschwächte Regenerationskraft des Knochenmarks nach der Kastration: Dieses ist wohl noch fähig, Erythrocyten, sogar im Übermaß, zu bilden, reagiert aber auf die geringsten Belastungen mit einer Herabsetzung seiner Tätigkeit. Es besteht also nach der Kastration in Wirklichkeit eine latente Knochenmarksinsuffizienz, wie sie uns auch aus der Literatur bekannt ist. Die normalen Verhältnisse durch künstliche Zufuhr des fehlenden Hormons wiederherzustellen, ist nach einer gewissen Zeit nicht mehr möglich. Die latente Knochenmarksinsuffizienz, welche kurz nach der Kastration noch ausgleichbar ist, wird bei der Mehrzahl der Tiere schon nach 1 Monat irreparabel. Der Zeitpunkt fällt etwa zusammen mit der kompensatorischen Erhöhung der Erythrocytenzahl, welche den endgültigen Ausfall des ovariellen Einflusses auf das Blutbild anzeigt. Daß die Erhöhung der Erythrocytenzahl in Wirklichkeit keine echte Regeneration darstellt, geht außer aus der erhöhten Empfindlichkeit gegen kleine Sexualhormondosen auch aus der mangelhaften Abwehrkraft gegenüber größeren Belastungen (vgl. unten) hervor. Wie später beschrieben, stimmen diese Befunde mit unseren Beobachtungen am Menschen überein.

Fehlerberechnung. Durchschnittliche Erythrocytenzahl aller in Tabelle 4 aufgeführten kastrierten Tiere (mit Ausnahme von Tier Nr. 36), sowie 2 zusätzlicher, in der Tabelle nicht aufgeführter vor 3 Jahren kastrierter Tiere (Vgl. unten) am Tage vor Injektionsbeginn: 9.07 Millionen. Durchschnittlicher Ausgangswert der normalen Tiere Nr. 9—24 (Tabelle 2): 8,42 Millionen, Unterschied: 650000, mittlerer Fehler der Differenz: $\pm$ 274000, das ist etwa das $2^1/_2$ fache der Differenz selbst. Der Unterschied in der Erythrocytenzahl von kastrierten und normalen Tieren beruht demnach nicht auf Zufälligkeiten.

Durchschnittlicher Ausgangswert der Tiere Nr. 27, 28 und 29 (Tabelle 4, oben): 9,36 Millionen, Durchschnitt der niedersten Erythrocytenwerte am 5. (Tiere Nr. 27 und 28) bzw. 6. (Tier Nr. 29) Tage: 8,59 Millionen, Unterschied: 770000, mittlerer Fehler der Differenz: $\pm$ 75000, Wahrscheinlichkeit: 99,9%. Tier Nr. 30 wurde nicht berücksichtigt, da bei diesem Tier die kompensatorische Erhöhung der Erythrocytenzahl noch nicht eingetreten war.

Durchschnittswerte für Hämoglobin vor Injektionsbeginn: 72%, am 5. bzw. 6. Tage: 72%, Unterschied: 0%.

Verdoppelt man die Dosis von 4,5 γ auf 9 γ, so sinkt bei 4 von 5 Tieren (Tiere Nr. 31, 32, 33 und 35, Tabelle 4, Mitte) Erythrocytenzahl und Hämoglobin am 3.—5. Tage deutlich ab. Die Anämie kehrt am 7. Tage wieder zur Norm zurück. Eine Ausnahme bildet, wie bereits erwähnt,

Tier Nr. 34, bei welchem die kompensatorische Erhöhung der Erythrocytenzahl nach der Kastration noch nicht eingetreten war und eine Anämie nicht nachgewiesen werden konnte.

Fehlerberechnung. Erythrocyten: Durchschnittswert vor Injektionsbeginn: 9,06 Millionen, am 5. Tage danach: 8,25 Millionen, Unterschied: 810000, mittlerer Fehler der Differenz: ± 320000, Wahrscheinlichkeit: 99,7%.

Hämoglobin: Durchschnittswert vor Injektionsbeginn: 78%, am 5. Tage: danach 68%, Unterschied: 10%, mittlerer Fehler der Differenz: ± 1,6%, Wahrscheinlichkeit: 99,9%.

Bei der nochmaligen Verdoppelung der Gesamtdosis von 9 γ auf 18 γ werden die Anämien noch deutlicher (vgl. Tabelle 4, unten), bei einzelnen Tieren hat sich das Blutbild nach 15 Tagen noch nicht erholt.

Fehlerberechnung. Erythrocyten: Durchschnittswert vor Injektionsbeginn: 8,75 Millionen, am 5. Tage nach Injektionsbeginn: 7,09 Millionen, Unterschied: 1,66 Millionen, mittlerer Fehler der Differenz: ± 554000, Wahrscheinlichkeit: 99,9%.

Hämoglobin: Durchschnittswert vor Injektionsbeginn: 75%, am 5. Tage nach Injektionsbeginn: 63%, Unterschied: 12%, mittlerer Fehler der Differenz: ± 5,1. Die Differenz beträgt das $2^1/_2$fache des mittleren Fehlers, so daß die Verminderung des Hämoglobins eben noch außerhalb des Zufallsbereichs fällt.

Bei den meisten Tieren der beiden letzten Gruppen (Tabelle 4, Mitte und unten) beginnt die Erholung des Blutbildes ziemlich genau mit dem Übergang des künstlichen Oestrus in den Metoestrus, nur bei Ratten, welche eine schwerere Anämie hatten, dauerte die Erholung oft erheblich länger.

Die Gesamtzahl der Leukocyten steigt bei kleineren Dosen (4,5 γ) an, bei größeren (9 γ und 18 γ) ist eher ein Absinken zu verzeichnen.

Um die Regenerationskraft kastrierter Tiere zu prüfen, haben wir schließlich noch Versuche mit höheren Dosen, und zwar insgesamt 45 γ, an 2 Tieren, die vor 3 Jahren kastriert worden waren, durchgeführt und hier auch das weiße Differentialblutbild bestimmt. Die Erythrocytenzahl sank schon am 4. Tage nach Injektionsbeginn deutlich ab, ebenso der Hämoglobingehalt. Die Erholung des Blutbildes trat erst um den 33. bis 38. Tag nach Injektionsbeginn ein. Die Ausgangswerte waren jedoch bei einem Tier um diese Zeit noch nicht erreicht.

Die Gesamtleukocytenzahl war vermindert (21. Tag), im Differentialblutbild war eine Vermehrung der Stabkernigen zu beobachten.

Es zeigt sich, daß auch bei diesen Tieren trotz kompensatorischer Erhöhung der Erythrocytenzahl nach der Kastration — die Ausgangswerte lagen um 10 Millionen — in Wirklichkeit eine verminderte Regenerationsfähigkeit besteht. Denn bei normalen Tieren setzt die Regeneration bei derselben Dosis erheblich früher ein, und das Ausmaß der Anämie ist ein geringeres.

δ) Dauerversuche an normalen Tieren.

Anschließend haben wir die Versuche von Grumbrecht[18]) über die Dauerzufuhr von Follikelhormon bei weiblichen Ratten an kleineren Tieren

Tabelle 5. Normale weibli

Täglich je 1000 γ Oestradiolmonobenzoat s. c. (= subcutan). Sämtl

Tier	1 Tag vor Injektionsbeginn			3			5			6			8		
Nr.	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	
39	75	8,02	19 800	60	7.37	22 900	-	—	-	65	6,50	20 100	65	7,13	13
40	75	7,75	14 400	65	9,10	13 200	-	—	—	70	7,33	13 200	75	8,66	14
41	70	7,72	15 100	65	6,90	13 500	—	—		65	7,25	22 500	65	7,16	25
42	75	7,43	16 700	75	7,68	11 300	70	7,45	12 500	—	—	—	70	7,82	13
43	80	7,51	12 600	70	6,57	7 800	75	6,60	15 500	—	—	—	60	6,89	11

und mit größeren Dosen wiederholt (vgl. Tabelle 5). Je 5 Ratten erhielten 24 (Tier Nr. 42) bzw. 101 Tage lang (Tiere Nr. 39, 40, 41, 43) täglich 1000 γ Oestradiolmonobenzoat subcutan, Erythrocyten, Hämoglobin und Leukocyten wurden zunächst in mehrtägigen, später in mehrwöchigen Abständen fortlaufend kontrolliert.

Das Hämoglobin sinkt bis zum Versuchsende kontinuierlich — bei einem Tier bis unter die Hälfte des Ausgangswertes — ab. Die Erythrocytenzahlen liegen während der ersten 2—3 Monate oft 1—2 Millionen unterhalb des Ausgangswertes. Zwischendurch finden sich aber auch annähernd normale, normale und darüber hinausgehende Werte. Dies bedeutet, daß immer nur vorübergehende Anämien auftreten, welche unter überschüssiger Regeneration wieder ausgeglichen werden. Das erste Absinken der Erythrocytenzahlen erfolgt bei einigen Tieren schon wenige Tage nach Injektionsbeginn (Tiere Nr. 39, 41 und 43), bei anderen sehen wir zu derselben Zeit normale (Tier Nr. 42) oder darüber hinausgehende Werte (Tier Nr. 40), d. h. die von uns verwendete Dosis erzeugt bei einmaliger täglicher Injektion bei der Mehrzahl der Tiere am 3. Tag eine Anämie, bei den übrigen Übergangswerte bis zur Polycythämie*.

Bei den bei Tiere Nr. 39, 41 und 43 später während des Dauerversuchs öfters zu beobachtenden normalen oder erhöhten Erythrocytenwerten haben wir es mit Regenerationsversuchen zu tun, die trotz der Weiterverabreichung des Hormons zustande kommen. Einen analogen Vorgang beobachteten wir beim unregelmäßigen Oestrus (vgl. S. 647). Dort ließ sich das Absinken der Erythrocytenwerte durch einen neuen Oestrus nicht aufhalten. Hier, wo es sich bei den meisten Tieren bei der Grundwirkung um eine Blutbildungshemmung handelt, läßt sich der vorübergehende Wiederanstieg der Erythrocytenzahlen trotz Fortbestehens des hemmenden Hormonflusses nicht verhindern. Ebenso wie unter dem länger anhaltenden Reiz kleiner Mengen von Follikelhormonen (gehäufte Oestren) eine länger anhaltende Polycythämie nicht erzeugt werden kann,

[18] Grumbrecht, l. c. 10.

* Vgl. auch Anmerkung S. 666.

atten. 80—120 g.

re starben kurze Zeit nach der letzten Zählung an Peritonitis.

ch Injektionsbeginn

16			24			32			71			101		
b	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L	Hb	E	L
5	7,17	22 700	60	6,80	8 500	60	7,17	8 000	55	7,85	25 000	50	7,31	9 500
5	7,81	20 000	70	8,75	11 100	65	7,38	10 500	55	8,12	15 200	30	6,16	18 200
0	7,45	31 100	60	6,58	12 900	60	7,47	11 500	65	7,27	15 900	—	—	—
0	6,86	20 900	60	7,85	7 800	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	7,03	10 000	60	6,38	7 700	65	7,29	5 700	60	6,86	49 600	45	5,59	13 000

erfolgt auch unter dem hemmenden Reiz großer Follikelhormondosen zunächst keine anhaltende Anämie. Auch hier zeigt sich also ein gewisser Rhythmus in der Tätigkeit des Knochenmarks. Den direkten Vergleich mit einem Daueroestrus läßt die weitere Entwicklung des Tieres Nr. 40 zu, bei welchem normale und über die Norm erhöhte Erythrocytenzahlen einander periodisch abwechseln, bis am 101. Tage schließlich auch bei diesem Tier eine Anämie eintritt. Tier Nr. 42 behält nur bis zum 16. Tage die Werte des Übergangstadium bei. Zu diesem Zeitpunkt beginnen die ersten Zeichen einer Anämie. Ähnliche Verhältnisse, die für eine „Gewöhnung" an reizende und hemmende Hormoneinflüsse sprechen, werden wir bei unseren Untersuchungen am Menschen antreffen.

Frühestens im 3.—4. Monat sieht man kaum noch normale oder gar erhöhte Erythrocytenwerte. Diese liegen um diese Zeit meist 2—3 Millionen unter dem Ausgangswert. Die Anämie beginnt irreparabel zu werden. Dieser Übergang ist besonders gut bei Verwendung größerer Tiere, welche länger als unsere Ratten am Leben bleiben (200 Tage und mehr), zu beobachten (vgl. Grumbrecht). Wir konnten bei dieser Versuchsserie das weitere Abfallen der Erythrocytenzahlen bis zum endgültigen Erlahmen der Regenerationskraft des Knochenmarks nicht mehr registrieren. Denn alle unsere Tiere starben 1—4 Monate nach Injektionsbeginn an Peritonitis oder Blutungen in den dritten Ventrikel.

Die Leukocyten bewegten sich ähnlich wie die Erythrocyten über und unter der Norm, ein endgültiges Absinken wurde nach 101 Tagen noch nicht beobachtet. Auch hier verweisen wir auf die Versuche von Grumbrecht mit größeren Tieren.

ε) Kastration und Blutbild.

Nach diesen Versuchen über die stimulierenden und hemmenden Eigenschaften des weiblichen Sexualhormons untersuchten wir, ob auch der Wegfall des normalerweise während der Geschlechtsreife gebildeten Hormons Folgen für die Blutbildung hat. Einige Ergebnisse haben wir schon in einem der vorigen Kapitel (vgl. S. 653 ff.) vorweggenommen. Wie erwähnt, findet sich längere Zeit nach der Kastration eine geringe Erythrocytose

Tabelle 6. Normale weibliche Ratten. 80—120 g.

Tier	1 Tag vor der Kastration		Tage nach der Kastration													
			1		4		6		7		8		10		21	
Nr.	Hb	E	Hb	E	Hb	E	Hb	E	Hb	E	Hb	E	Hb	E	Hb	E
44	75	8,37	80	8,38	65	7,91	55	6,13	—	—	—	—	—			—
45	70	8,11	65	7,43	65	7,57	60	5,15	55	6,53	70	6,52	70	7,16	75	7,89
46	65	8,81	65	8,48	65	6,55	50	5,99	—	—	50	6,05	60	6,63	75	8,20
47	70	7,63	70	7,11	65	6,25	60	6,19	—	—	70	7,22	70	7,20	70	7,28
48	70	8,00	70	8,15	65	7,45	60	6,62	—	-	65	7,05	70	7,54	75	7,82

sowie eine latente herabgesetzte Regenerationsfähigkeit des Knochenmarks. Wie verhält sich aber das Blutbild kurz nach der Kastration selbst?

Während es 1 Tag nach der Kastration noch annähernd normale Werte zeigt, erfolgt am 4.—6. Tage nach der Kastration ein Absinken der Zahl der roten Blutkörperchen und des Hämoglobins (vgl. Tabelle 6). Die Erholung erfolgt bei den einzelnen Tieren verschieden schnell nach etwa 1—3 Wochen. Nach einigen weiteren Wochen bis Monaten kommt es dann zu einer kompensatorischen Erhöhung der Erythrocytenzahl.

Fehlerberechnung. Durchschnittliche Erythrocytenzahl vor der Kastration: 8,18 Millionen, am 6. Tage nach der Kastration: 6,01 Millionen, Unterschied: 2,17 Millionen, mittlerer Fehler der Differenz: ± 310000, Wahrscheinlichkeit: 99,9%.

Hämoglobin: Durchschnittswert vor der Kastration: 70%, am 6. Tage danach: 57%, Unterschied: 13%, mittlerer Fehler der Differenz: ± 2,5 Wahrscheinlichkeit: 99,9%.

Im weißen Differentialblutbild stellt sich kurz nach der Kastration eine Lymphopenie ein, die sich nach 3 Wochen wieder ausgleicht. Ob es sich um eine relative oder absolute Lymphopenie handelt, kann bei den stündlich wechselnden Gesamtleukocytenzahlen nicht mit Sicherheit gesagt werden.

Das Auftreten einer vorübergehenden Anämie bei Ratten nach der Kastration stimmt mit den Beobachtungen an anderen Tieren (vgl. S. 644) und auch am Menschen (Adler) überein und bestätigt den stimulierenden Einfluß des normalerweise zur Zeit der Geschlechtsreife gebildeten Ovarialhormons.

Veränderungen des Blutbildes nach alleiniger Unterbindung der Tuben oder Herausnahme des Uterus haben wir nicht beobachten können. Immerhin bleibt zu untersuchen, inwieweit die von Loeser[19] gefundene Relaisfunktion der Uterusschleimhaut, welche das während der Ovulation in die Tuben gelangende Hormon schilddrüsenwirksam werden läßt, für die periodische Reizung des Knochenmarks zur Zeit des Oestrus von Bedeutung ist. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die Schilddrüse in den Vorgang der Knochenmarksreizung durch Sexualhormon direkt oder indirekt synergistisch eingreift.

[19] Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**. 345 (1938).

C. Untersuchungen am Kaninchen.

Beim Kaninchen treffen wir im allgemeinen sehr konstante Blutbildverhältnisse an. Mit der bei der Ratte verwendeten Methodik gelingt es auch bei diesem Tier, im Kurzversuch Polycythämien und Anämien zu erzeugen. Die Gesamtdosen liegen für die Erythrocytose etwa um 9—18 γ, für die Erythrocytopenie um 18—45 γ pro Tier, wenn etwa 2000 g schwere Tiere verwendet werden. Diese Versuchsergebnisse stimmen überein mit den Untersuchungen Nicolles [20], der bei weiblichen Kaninchen durch Injektion von Urin normaler Frauen — also Urin, der relativ geringe Mengen von Follikelhormon enthält — Polycythämien, mit Urin schwangerer Frauen — in dem das Hormon vermehrt vorkommt — dagegen Anämien erzeugt hat. Kaninchen sprechen aber nicht mit derselben Regelmäßigkeit wie Ratten auf eine bestimmte Dosis weiblichen Sexualhormons an, so daß mehr Versuchstiere benötigt werden. An einem Kaninchen können außerdem höchstens zwei Versuche durchgeführt werden, denn beim dritten Versuch tritt, wenn ein freies Intervall von 14 Tagen bis 3 Wochen zwischen den einzelnen Versuchen eingehalten wird, eine Art Immunität ein: Die Tiere reagieren auch auf hohe Dosen Follikelhormon nicht mehr.

Die Kastration hat wie bei der Ratte eine vorübergehende Anämie zur Folge. Einige Zeit nach der Anämie erhöht sich die Erythrocytenzahl kompensatorisch über die Norm hinaus, wie wir dies ebenfalls bei der Ratte gesehen haben.

Am weiblichen Kaninchen haben wir weiterhin geprüft, ob auch nach intravenöser Injektion des Hormons Veränderungen im Blutbild auftreten. Injiziert man 100 γ einer wässerigen Lösung von Oestradiol in die

Tabelle 7. Normales weibliches Kaninchen.
2500 g. 100 γ Oestradiol i. v. (= intravenös).

Zeit	Hb	E	L	Sg	Ly	B	Es	M	St
				Vor der Injektion.					
1 Stunde	60	5,36	6 200	10	87	—	1	2	–
				Nach der Injektion.					
1 Stunde	70	5,48	4 200	—	–	—	–	—	
2 Stunden	60	5,52	4 200	44	40	1	3	1	11
5 „	65	5,79	13 200	—	—	—	—	—	—
15 „	65	6,11	8 200	37	59	–	–	1	3
25 „	60	5,64	10 000	—	—	—	—	—	—
37 „	50	4,78	12 000	21	74	2	—	2	1
2 Tage	50	5,12	7 400	—	—	—	—	—	—
3 „	55	5,23	6 200	20	79	—	—	–	1
4 „	60	5,70	6 800	0	89	2	9		
6 „	65	5,80	6 500	—	—	—	—	—	—
8 „	55	5,45	6 300	—	—	—	—	—	—

B = Basophile.

[20] Nicolle: C. r. Acad. Sci. Paris **203**, 1184 (1936).

Ohrvene, so zeigt sich als Reizwirkung zunächst eine geringe Vermehrung der roten Blutkörperchen und des Hämoglobins, welcher eine Verminderung derselben Elemente nachfolgt (vgl. Tabelle 7). Die Gesamtleukocytenzahl ist vermehrt, im weißen Differentialblutbild tritt eine Lymphopenie und Linksverschiebung ein. Nach einigen Tagen sind die Ausgangswerte wieder erreicht. Alle diese Veränderungen sind uns von den Versuchen mit öligen Sexualhormonlösungen am gleichen Tier und an der Ratte bekannt. Die Ausschläge sind geringer als bei subcutaner, intramuskulärer oder intraperitonealer Zufuhr, da das Hormon aus der Blutbahn schnell (2000 ME. innerhalb einer halben Stunde) wieder verschwindet [21]).

D. Untersuchungen am Hund.

α) Kurzversuche am normalen Tier.

Während dauernde Injektionen (220–4400 γ Oestradiolmonobenzoat täglich) von Follikelhormon beim Hund nach wenigen Wochen ein schweres Vergiftungsbild nach Art einer hämorrhagischen Diathese erzeugen, sind Einzelinjektionen bis zu 22 mg Oestradiolmonobenzoat ohne jede Wirkung auf das Blutbild [22]. Schon Holtz und Mitarbeiter bemerkten, daß die gleiche Menge, auf kleine Einzeldosen verteilt, wirksam war. Mittels unserer

Tabelle 8. Normaler weiblicher Hund. 19 kg.

Dreimal täglich 3 Tage lang je 20—100 γ Oestradiolmonobenzoat i. m. (= intramuskulär). Zwischen beiden Versuchen wurde eine Pause von 4 Wochen eingeschaltet.

Zeit	Hb	E	L	Sg	Ly	Es	M	St
Gesamtdosis: 180 γ.								
1 Tag vor Injektionsbeginn	80	5,00	13 700	64	23	6	1	6
4 Tage nach Injektionsbeginn	80	7,05	18 500	73	5	6	1	15
5 „ nach Injektionsbeginn	70	5,95	14 500	55	26	12	—	7
6 „ nach Injektionsbeginn	80	5,07	14 000	50	37	6	—	7
11 „ nach Injektionsbeginn	80	5,40	9 600	57	27	9	—	7
19 „ nach Injektionsbeginn	80	5,20	21 800	—	—	—	—	—
Gesamtdosis: 900 γ.								
1 Tag vor Injektionsbeginn	85	5,88	12 500	42	45	7	2	4
1 Tag nach Injektionsbeginn	75	5,59	13 800	54	14	3	5	24
2 Tage nach Injektionsbeginn	70	5,20	18 500	51	15	6	3	25
3 „ nach Injektionsbeginn	60	5,15	16 600	55	23	4	2	16
4 „ nach Injektionsbeginn	65	4,57	14 900	50	32	2	2	14
5 „ nach Injektionsbeginn	65	5,55	13 000	55	29	3	—	13
9 „ nach Injektionsbeginn	70	5,83	12 600	45	34	1	7	13
17 „ nach Injektionsbeginn	80	6,38	14 700	—	—	—	—	—
21 „ nach Injektionsbeginn	90	7,21	9 400	46	38	4	5	7
28 „ nach Injektionsbeginn	90	5,64	10 300	57	34	3	—	6

[21] Frank u. Goldberger: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **29**, 1229 (1932). — [22] Holtz u. Mitarbeiter: l. c. 9.

bei der Ratte verwandten Methodik gelang es uns, mit insgesamt 180 γ beim Hund eine Erythrocytose mit gleichzeitiger Vermehrung der Leukocyten, Linksverschiebung und Lymphopenie hervorzurufen. Das Fünffache dieser Dosis (900 γ) hatte dagegen eine Anämie mit Leukocytose und starker Linksverschiebung und Lymphopenie zur Folge. Diese Anämie wurde unter erhöhter Regeneration wieder ausgeglichen. Ebenso ist die Polycythämie vorübergehend (vgl. Tabelle 8). Wir sehen also im Kurzversuch beim Hund dieselben vorübergehenden Blutbildveränderungen wie bei der Ratte und beim Kaninchen auftreten, obwohl sich der Hund im Dauerversuch — allerdings nur hinsichtlich seiner höheren Empfindlichkeit — andersartig verhält.

β) Dauerversuche am normalen Tier.

Das beim Hund nach häufigen Injektionen großer Follikelhormonmengen auftretende, von Holtz und Mitarbeitern entdeckte Vergiftungsbild haben wir nach Wiederholung dieser Versuche in vollem Umfange bestätigt gefunden. Die Veränderungen sind qualitativ dieselben wie sie von uns in Kurz- und Dauerversuchen an Ratten und Kaninchen und, wie noch erörtert werden soll, auch am Menschen erzeugt werden konnten. Nur tritt die endgültige Knochenmarkslähmung beim Hund früher ein als bei der Ratte, beim Kaninchen und auch beim Mensch.

Es erhob sich nunmehr die Frage, ob diese nach 3—4 Wochen auftretende Knochenmarksinsuffizienz verhindert werden kann. Es ist bekannt, daß das Sexualhormon in der Leber zerstört wird[23] und es bestand somit die Möglichkeit, daß durch Leberinjektionen das Hormon oder ein Teil desselben gebunden bzw. entgiftet werden könnte.

Injiziert man einem Hund täglich 1000 γ Oestradiolmonobenzoat intramuskulär und verabreicht gleichzeitig Dosen von Campolon, wie sie bei der menschlichen Anämie perniciosa gegeben werden, so läßt sich bereits eine günstige Wirkung der Leber auf das Blut erkennen. Zwar kann man mittels dieser Dosen — wir gaben etwa jeden 2. Tag 2 ccm Campolon — das Leben des Hundes nicht verlängern, der Ablauf der Veränderungen des Blutbildes erscheint jedoch wesentlich gemildert. Diese mildernde Wirkung betrifft vor allem das rote Blutbild. Holtz und Mitarbeiter schreiben, daß zwischen dem 14. und 28. Versuchstag die Zahl der Erythrocyten auf 2 bis 4 Millionen absinkt. Entsprechend soll sich das Hämoglobin verhalten, so daß der Färbeindex gleich bleibt. Obwohl unser Versuchshund schon niedrige Ausgangswerte zeigte, trat nach zusätzlichen Leberinjektionen eine Verminderung der Erythrocytenzahl unter die 5 Millionengrenze und des Hämoglobins unter 60% erst kurz vor dem Exitus ein. Nur eine Blutung aus der Scheide und der Schnauze am 10. Versuchstage hatte eine leichte vorübergehende Anämie zur Folge.

[23] Zondek: Skand. Arch. Physiol. (D) **70**, 133 (1934); Lancet **227**, 356 (1934).

Auch die Anämie kurz vor dem Exitus war nicht durch eine direkte Hemmung der Knochenmarkstätigkeit, sondern durch die zum Tode führende profuse Blutung in den Magen bedingt. Die Erhöhung der Leukocytenzahl am 12. Versuchstage liegt ebenfalls unter den sonst beobachteten Werten. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, daß der Gipfel des Leukocytenanstiegs oft nur für Stunden erreicht und somit vom Untersucher nicht immer erfaßt werden kann. Das weiße Differentialblutbild verhielt sich genau so wie bei den Versuchen mit Follikelhormon allein.

Noch deutlicher wirkt sich der prophylaktische Einfluß der Leber bei Verabfolgung größerer Mengen aus (vgl. Tabelle 9). In der Annahme.

Tabelle 9. Normaler weiblicher Hund. 23 kg.

Achttägige Vorbehandlung mit Campolon. Anschließend 59 Tage lang täglich je 1000 γ Oestradiolmonobenzoat + je 4 ccm Campolon i. m.

Tage	Hb	E	L	Sg	Ly	Es	M	St	J	Ml	Thr	R	Bemerkungen
						Vor Injektionsbeginn:							
1	100	7,45	8 500	62	24	8	—	6	—	—	266 400	6	—
						Nach Lebervorbehandlung:							
7	100	7,95	11 100	41	19	32	—	8	—	—	349 150	11	—
						Nach gleichzeitiger Leber- und Follikelhormonbehandlung:							
6	95	8,22	12 700	61	28	3	1	7	—	—	115 000	4	—
12	75	5,77	21 700	58	16	3	1	19	2	1	23 000	1	—
18	80	7,55	50 900	70	8	4	—	18	—	—	90 600	11	—
22	75	6,63	72 500	75	7	11	—	7	—	—	69 000	17	—
28	75	5,70	20 500	79	10	11	—	—	—	—	45 600	8	—
35	90	7,73	15 500	75	21	2	2	—	—	—	77 000	4	Einstichstelle der Injektionsnadel blutet.
47	80	6,42	17 000	76	21	1	—	2	—	—	40 000	2	
54	80	5,80	21 100	72	19	4	3	2	—	—	40 000	4	Allgemeine Mattigkeit. Große Freßlust.
59	85	7,06	18 000	69	24	4	—	3	—	—	119 000	—	
						Nach Absetzen der Injektionen:							
8	90	7,10	12 700	69	21	5	2	3	—	—	269 800	3	Normales Wohlbefinden
15	95	6,18	10 800	54	29	12	2	3	—	—	210 000	3	
22	95	7,82	7 700	69	19	8	1	3	—		156 400	2	

J = Jugendliche, Ml = Myelocyten, Thr = Thrombocyten, R = Retikulocyten.

daß das für die Entgiftung maßgebende Prinzip gespeichert werden könnte, haben wir vor dem eigentlichen Versuchsbeginn 8 Tage lang täglich 4 ccm Campolon injiziert. Das Tier reagierte mit einer leichten Steigerung seiner Erythrocyten- und Retikulocytenzahl sowie einer Eosinophilie. Vom 8. Tage ab wurde täglich 1000 γ Oestradiolmonobenzoat sowie weiterhin täglich je 4 ccm Campolon injiziert. Während der Versuchsdauer von 59 Tagen sank die Zahl der roten Blutkörperchen nicht unter 5,7 Millionen, das Hämoglobin nicht unter 75 % und während der ganzen Zeit war niemals ein völliges Verschwinden der Retikulocyten und Thrombocyten zu beobachten, wie dies bei Versuchen mit Follikelhormon allein regelmäßig der

Fall ist. Nur einmal sank die Retikulocytenzahl auf 1 %, gleichzeitig die Thrombocyten auf 23000 und die Erythrocyten auf 5,77 Millionen. Ein derartiges Zusammentreffen eines Thrombocyten- und Retikulocytenabfalls mit gleichzeitigen Blutungen nach innen oder außen sind uns von den Versuchen von Holtz her bekannt. Die Leukocyten waren während der ganzen Versuchszeit erhöht. Im weißen Differentialblutbild kam es infolge der neutrophilen Leukocytose zu einer relativen Lymphopenie, außer dem einer gleichzeitigen Linksverschiebung. Niemals wurde eine Leukopenie mit relativer Lymphocytose, welche den baldigen Tod des Versuchstieres anzuzeigen pflegt, festgestellt. Nur einmal trat eine geringe Blutung an der Einstichstelle der Injektionsnadel auf. Am 59. Tage wurde Progynon und Campolon abgesetzt und das Verhalten des Blutbildes weiter beobachtet. Dieses kehrte innerhalb der ersten 3 Wochen nach Absetzen der Injektionen bis auf die vorübergehend nochmal unter dem Durchschnittswert sinkende Thrombocytenzahl zur Norm zurück. Das Vergiftungsbild entwickelte sich also nicht weiter, wie dies der Fall ist, wenn man nach alleiniger Follikelhormonbehandlung die Injektionen im Stadium der Leukocytose abbricht. Vielmehr befand sich der Hund viele Monate nach Absetzen der Follikelhormon- und Leberinjektionen bei bestem Wohlbefinden, und das Blutbild blieb auch weiterhin normal.

Einem dritten Hund haben wir schließlich ebenfalls täglich 59 Tage lang 1000 γ Oestradiolmonobenzoat intramuskulär, statt des Campolons aber täglich $^1/_2$ g Ferrochlorid (stabilisiert) verabfolgt (vgl. Tabelle 10). Die Prüfung der prophylaktischen Wirkung des Eisens ergab grund-

Tabelle 10. Normaler männlicher Hund. 14,6 kg.
59 Tage lang täglich je 1000 γ Oestradiolmonobenzoat i. m. + je $^1/_2$ g Ferrochlorid per os.

Tage	Hb	E	L	Sg	Ly	Es	M	St	J	Mi	Thr	R	Bemerkungen
					Vor Injektionsbeginn:								
1	80	6,22	10 600	62	24	8	—	6	—	—	248 800	7	
					Nach gleichzeitiger Eisen- und Follikelhormonbehandlung:								
6	85	6,27	13 100	78	13	1	3	4	1	—	174 000	4	—
12	80	6,77	21 400	65	24	2	1	8	—	—	33 800	5	Vereinzelt Erythroblasten
18	70	5,67	40 000	69	10	1	—	20	—	—	136 000	7	—
22	55	4,90	25 900	78	16	4	—	2	—	—	68 600	12	
28	60	4,86	34 600	72	21	5	—	2	—	—	132 000	7	—
35	70	4,90	16 900	57	40	—	—	3	—	—	127 400	5	Große Freßlust
47	55	4,35	11 000	67	26	2	3	2	—		72 500	3	Gutes Allgemeinbefinden
54	70	6,16	15 800	62	33	1	2	2	—	—	73 920	4	—
59	65	6,02	10 900	42	46	6	1	5	—	—	66 000	—	
					Nach Absetzen der Injektionen und des Eisens:								
8	80	5,87	10 400	73	20	2	2	3	—	—	46 960	—	
15	65	5,98	15 900	69	21	2	3	5	—	—	180 000	4	Vollkommenes Wohlbefinden
22	80	5,86	13 100	62	29	4	—	5	—	—	140 000	4	

sätzlich dieselben Resultate, wie wir sie für die Leberwirkung beschrieben. Blutungen nach außen konnten bei diesem Tier überhaupt nicht beobachtet werden. 3 Wochen nach der letzten Injektion war auch hier bis auf die etwas zurückbleibende Thrombocytenzahl die Norm wieder erreicht. Der Hund blieb am Leben und zeigte einige Monate nach Absetzen der Injektionen normale Blutbildverhältnisse.

Die beiden letzten Versuche zeigen, daß sowohl die Leber- als auch die Eisenbehandlung, wenn beide Mittel in genügender Menge dargereicht werden, eine schwere Schädigung des Knochenmarks durch das gleichzeitig verabfolgte Follikelhormon längere Zeit hindurch verhüten. Nach Holtz und Mitarbeitern gehen die Tiere bei alleiniger Sexualhormonbehandlung mit einer Tagesdosis von 1100 γ Oestradiolmonobenzoat durchschnittlich nach etwa 30 Tagen an einer vollständigen Knochenmarksinsuffizienz zugrunde. In unseren Versuchen waren dafür infolge der prophylaktischen Wirkung von Leber und Eisen nach 60 Tagen noch keinerlei Anzeichen vorhanden. Setzt man bei Tieren, welche nur Follikelhormon bekommen haben, kurz vor oder während des Leukocytenanstiegs die Injektionen ab, so verläuft das weitere Vergiftungsbild genau so, als wenn man die Injektionen fortgesetzt hätte, d. h. die Tiere gehen zugrunde. Wie erwähnt, war dies bei unseren Tieren, welche gleichzeitig Leber und Eisen bekommen hatten, nicht der Fall. Die Wirkung der Leber beziehen wir neben einer geringen Reizwirkung auf das Knochenmark auf ihre entgiftenden Eigenschaften, die des Eisens auf einen direkten, den hemmenden Wirkungen des Follikelhormons entgegengesetzten Knochenmarksreiz.

E. Untersuchungen am Menschen*.

Kurzversuche an normalen Versuchspersonen.

Auch das Blutbild des Menschen zeigt nach kurzdauernden Injektionsversuchen mit weiblichem Sexualhormon feine Veränderungen, welche im wesentlichen mit den mitgeteilten Ergebnissen am Tier übereinstimmen.

Sämtliche Versuche wurden im Intermenstrum ausgeführt. Eine Gesamtdosis von 90 γ, verteilt auf neun Injektionen innerhalb von 3 Tagen, ruft zunächst eine Vermehrung, nachfolgend eine Verminderung der Zahl der roten Blutkörperchen hervor. Gleichsinnig verhält sich der Blutfarbstoff. Die Reizwirkung tritt schon am 2. Injektionstag auf, um dann in eine Hemmung der Blutbildung überzugehen. Die Dosis, welche das Knochenmark lediglich reizen würde, ohne es nachfolgend zu hemmen, liegt also noch unter 90 γ. Bei der Erhöhung der Gesamtdosis um das Fünffache tritt von vornherein eine Anämie ein. Dasselbe beobachtet man bei einer weiteren Erhöhung der Gesamtdosis um das 10-, 100- und 500fache.

* Die Versuche wurden durch die freundliche Vermittlung von Herrn Dr. Grumbrecht in der hiesigen Universitäts-Frauenklinik durchgeführt. Die Wiedergabe der Tabellen ist aus äußeren Gründen nicht möglich. Sie können aber beim Verfasser eingesehen werden (Pharmakologisches Institut der Universität Freiburg i. Br.).

Die Gesamtleukocytenzahl ist meist schon am 1. Tage nach Injektionsbeginn leicht erhöht und am 5. und 7. Tage mitunter erniedrigt. Das Differentialblutbild verhält sich im ganzen weniger charakteristisch als in den Tierversuchen.

Die Zahl der Thrombocyten bleibt bei einer Gesamtdosis von 90 γ unbeeinflußt, sinkt aber bei höherer Dosierung in einzelnen Fällen deutlich ab.

Charakteristisch verhält sich die Blutgerinnungszeit. Während sie bei kleinen Dosen (90 γ—450 γ) um etwa 3′, bei mittleren (900 γ) um etwa $1^1/_2$′ herabgesetzt wird, tritt bei hohen Dosen (9000–45000 γ) eine deutliche Verlängerung mit nachfolgender Verkürzung ein. Damit stimmen die Angaben der Literatur überein, daß der Serumkalkspiegel unter der Einwirkung hoher Sexualhormondosen regelmäßig abnimmt[24] und das Blut an Fibrinogen verarmt erscheint[25].

Weniger klar erscheinen zunächst die Veränderungen der Blutungszeit. Man sieht ohne Abhängigkeit von der Dosis Verlängerungen und Verkürzungen. Offenbar bestehen hier aber Zusammenhänge mit dem Verhalten der Thrombocyten. Bei herabgesetzter Thrombocytenzahl tritt auch eine Verlängerung der Blutungszeit auf, bei normaler oder verkürzter Blutungszeit bewegt sich umgekehrt die Zahl der Thrombocyten um die Norm oder ist erhöht. Derartige Beziehungen zwischen Thrombocytenzahl und Blutungszeit hat Frank[26] näher beschrieben. In den Versuchen von Holtz trafen die Blutungen regelmäßig mit einer Thrombopenie zusammen. Die erweiternde Wirkung des Follikelhormons auf die Kapillaren mag dabei ebenfalls eine Rolle spielen.

Alle diese Veränderungen hielten nur kurze Zeit an und kehrten dann zur Norm zurück. In den Kurzversuchen am Menschen treten demnach im wesentlichen dieselben Reaktionen wie bei Ratten, Kaninchen und Hunden auf. Einzelne Veränderungen sind dabei weniger ausgeprägt, so die Leukocytose bzw. Leukopenie, die Linksverschiebung und die relative Lymphopenie. Auch die Retikulocyten wichen nur wenig von der Norm ab.

In der hiesigen Universitäts-Frauenklinik wurden unter Aufsicht von Grumbrecht[27] auch Dauerversuche an normal menstruierenden und in der Menopause befindlichen weiblichen Versuchspersonen durchgeführt. Bei einer seit 13 Jahren in der Menopause befindlichen Frau, welche innerhalb von 20 Tagen 79000 γ Oestradiolmonobenzoat erhalten hatte, zeigten sich dieselben Resultate, wie sie Grumbrecht und uns von den Dauerversuchen mit hohen Dosen von Follikelhormon an der Ratte und auch am Hunde bekannt waren: Die Erythrocytenzahl sank um über 2 Millionen, das Hämoglobin um 2,7 g; nach der letzten Injektion waren beide Werte noch nicht zur Norm zurückgekehrt. Die Leukocytenzahl stieg stark an und sank dann trotz weiterer Behandlung wieder ab. Der

[24] Holtz u. Mitarbeiter: l. c. 9; Bareuther u. Schabbel: l. c. 9. — [25] Holtz u. Mitarbeiter: l. c. 9. — [26] Frank: Berl. klin. Wschr. **1915**, Nr. 18, 19, 37, 41; **1916**, Nr. 21. — [27] Freudenberg: Inaug.-Diss. Freiburg 1940.

Anstieg war durch eine Granulocytose bedingt. Die Vorstufen der weißen Blutzellen und die Retikulocyten waren vermehrt. Die Thrombocyten, anfangs vermehrt, waren am 15. Behandlungstage vermindert, die Gerinnungs- und Blutungszeit, anfangs verkürzt, verlängerte sich vom 15. Behandlungstage ab bis zur Norm.

Normal menstruierende oder erst kurze Zeit in der Menopause befindliche Frauen zeigten dagegen (nach täglicher Injektion von 2000—15000 γ 7—20 Tage lang, insgesamt 35000—85000 γ) das Bild einer Knochenmarksreizung: Eine Vermehrung, ein Gleichbleiben oder seltener eine feine Verminderung (Übergangsstadium) der Erythrocyten und des Hämoglobins, eine Vermehrung der Retikulocyten, Thrombocyten und Leukocyten bei einer Verkürzung der Gerinnungs- und Blutungszeit. Alle diese Veränderungen kehrten noch vor Versuchsende zur Norm zurück.

Das unterschiedliche Verhalten von Frauen, die sich seit längerer Zeit in der Menopause befanden, und Frauen, die normal menstruierten, erklärt sich aus der verringerten Regenerationsfähigkeit des Knochenmarks während des Klimakteriums und erinnert an unsere unterschiedlichen Befunde an normalen und kastrierten Ratten. Die Tatsache, daß die Knochenmarksreizung wie die Knochenmarkshemmung noch vor Versuchsende zur Norm zurückkehrt, entspricht unseren Beobachtungen im Dauerversuch bei der Ratte, den Remissionen beim Hund und den Verhältnissen beim „gehäuften" Oestrus.

Wie sind aber die quantitativen Unterschiede im Verhalten des Blutbildes zwischen Kurz- und Dauerversuch bei normal menstruierenden Frauen zu erklären?

Im Dauerversuch wurde selbst mit Dosen von 85000 γ (innerhalb von 9 Tagen) niemals eine Hemmung der Knochenmarkstätigkeit erzielt, während uns dies im Kurzversuch bereits von 90—900 γ an gelang, und in unseren Versuchen die stimulierende Dosis bei höchstens 90 γ lag. Diese Wirkungsunterschiede erklären sich aus der Tatsache, daß eine kleine Dosis von Follikelhormon, auf mehrere Injektionen in kurzen Abständen verteilt, dieselben oder sogar stärkere Wirkungen erzielt als eine hohe Einzeldosis oder zahlreiche hohe Einzeldosen, die in größeren Abständen injiziert werden.

Entsprechende Parallelen sahen wir im Tierversuch:

Während bei der Ratte im Dauerversuch eine Dosis von 1000 γ Oestradiolmonobenzoat, täglich einmal verabreicht, am 3. Tage bei einem Tier eine Polycythämie, bei einem weiteren noch keine Veränderung des Blutbildes und nur bei 3 Tieren eine Anämie erzeugte, ließ sich im Kurzversuch bereits mit 4,5 γ bei allen Tieren eine Knochenmarksreizung, mit 9 γ ein Übergangsstadium und mit 18 γ eine Knochenmarkshemmung erreichen*.

* Grumbrecht erzielte in seinen Dauerversuchen an größeren Ratten mit einer Tagesdosis von 100 γ in den ersten Tagen des Versuchs regelmäßig eine Knochenmarksreizung.

Beim Kaninchen machte eine einmalige Injektion von 100 γ Östradiol, intravenös injiziert, zunächst eine Polycythämie und nachfolgend eine Anämie, während wir im Kurzversuch bereits mit dem 5.—10. Teil dieser Dosis dieselbe Wirkung erzielen konnten.

Die Hemmung des Knochenmarks wurde beim Hund im Kurzversuch mit insgesamt 900 γ innerhalb von 3 Tagen erreicht, im Dauerversuch benötigt man dazu wenigstens 220 γ pro Tag, wobei die Hemmung des Knochenmarks frühestens nach 5—10 Tagen einsetzt. Die dauernde tägliche Verabreichung von 44 γ (Holtz) oder von 400 γ alle 2 Tage (Bareuther und Schabbel) hat überhaupt keine Folgen für das Blutbild. Sehr hohe Sexualhormondosen, in größeren Abständen injiziert, mildern den Verlauf. Eine einmalige Injektion von 22000 γ verändert das Blutbild überhaupt nicht, während dieselbe Dosis, auf mehrere Injektionen verteilt, wirksam ist (Holtz).

Am Menschen treten überhaupt keine Blutbildveränderungen auf, wenn Mengen bis zu 5000 γ nur jeden dritten Tag längere Zeit hindurch gegeben werden [28]. Dagegen läßt sich auch beim Menschen dasselbe Vergiftungsbild wie beim Hund erzeugen, wenn längere Zeit in der Menopause befindlichen Frauen außergewöhnlich hohe Follikelhormondosen innerhalb einer kurzen Zeitraums in kurzen Abständen injiziert werden. Dieses ist außer in der hiesigen Universitäts-Frauenklinik auch von Bockelmann [29] gefunden worden. Schwerere Vergiftungsbilder an normal menstruierenden Frauen sind mir nicht bekannt.

Aus allen diesen Daten geht hervor, wie sehr die Applikationsweise des Follikelhormons berücksichtigt werden muß, wenn man Schlüsse von der Dosierung auf die Wirkung ziehen will. Ohne Anwendung der bei den Kurzversuchen angewandten Methode des mehrmaligen täglichen Injizierens wäre es uns gar nicht gelungen, mit derart niedrigen, annähernd physiologischen Dosen konstante Blutveränderungen bei Ratte, Kaninchen, Hund und Mensch zu erzielen. Das Zustandekommen der Blutbildveränderungen ist eben nicht nur von der Höhe der Einzeldosis, sondern vor allem auch vom zeitlichen Abstand der Einzelinjektionen abhängig. Aus diesem Gesetz der Sexualhormonwirkung, dessen Bedeutung für die Auslösung der Brunst schon bekannt ist [30], folgt für die Therapie, daß auch schon kleine Dosen des Hormons pathologische Auswirkungen haben können, wenn sie häufig und in kurzen Abständen injiziert werden, daß dies aber in besonderem Maße der Fall ist, wenn diese Applikationsweise auf hohe Dosen angewandt wird. Dies gilt besonders für Patientinnen, die sich schon längere Zeit in der Menopause befinden und somit geringere Regenerationsmöglichkeiten besitzen. Ganz ähnliche Verhältnisse treffen wir bei Versuchen mit künstlichen Brunststoffen an, über die wir an anderer Stelle berichten werden.

[28] Wobker: Arch. Gynäk. **164**, 607 (1937); Mazer: J. amer. med. Assoc. **105**, 257 (1935). — [29] Bockelmann: Arch. Gynäk. **164**, 597 (1937). — [30] Marrian u. Mitarbeiter: J. Physiol. (Brit.) **67** u. **68** (1929/30); Allan, Dickens u. Dodds: Ebenda **68**, 348 (1930); Straub: Klin. Wschr. **1940**, 911.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Aus den periodischen mit den cyclischen Eireifungsvorgängen gleichlaufenden Schwankungen des roten Blutbildes bei der Ratte sowie dem Auftreten von Kastrationsanämien bei weiblichen Ratten und Kaninchen geht hervor, daß das Ovar normalerweise einen stimulierenden Einfluß auf die Erythropöese hat. Daß es sich bei dem vom Ovar abgegebenen, die Blutbildung anregenden Wirkstoff um das weibliche Sexualhormon selbst handelt, zeigen die Injektionsversuche an normalen Ratten, Kaninchen, Hunden und Menschen: Physiologische Mengen von Follikelhormon regen die Tätigkeit des Knochenmarks an, große hemmen sie. Die auftretenden Veränderungen des Blutes sind bei allen Tieren und auch beim Menschen grundsätzlich dieselben: Vermehrung der Erythrocyten, des Hämoglobins, der Retikulocyten, Thrombocyten und Leukocyten, beginnende Linksverschiebung und relative Lymphopenie nach normalen, stimulierenden Mengen des Hormons, Anämie mit starker Leukocytose, Linksverschiebung und Lymphopenie, welche im Dauerversuch schließlich in Leukopenie mit relativer Lymphocytose übergeht, Verminderung der Retikulocyten und Thrombocyten nach höheren Follikelhormondosen. Gerinnungs- und Blutungszeit werden nach kleinen Mengen verkürzt, nach großen verlängert.

Alle diese Veränderungen sind vorübergehend, soweit das Hormon nur kurze Zeit injiziert wird. Werden hohe Dosen von Follikelhormon längere Zeit hindurch im Abstande von 1 Tage verabfolgt, so zeigen sich bei Mensch und Tier zunächst erhebliche Gegenregulationen im Sinne einer Gewöhnung.

Bei der Ratte wird diese Gewöhnung im Dauerversuch immer wieder durchbrochen, bis nach 4—5 Monaten die Schädigung des Knochenmarks irreparabel wird. Eine Gewöhnung an die Wirkung kleiner Mengen von Sexualhormon beobachteten wir bei diesem Tier beim Auftreten des sogenannten „gehäuften Oestrus". Diese Gewöhnung äußerte sich in einer vorübergehenden mangelnden Ansprechbarkeit des Knochenmarks auf den pathologischen Dauerreiz des Sexualhormons.

Beim Kaninchen sahen wir nach dem zweiten Kurzversuch eine völlige Immunität gegen gleiche und sogar höhere Dosen des Hormons. Häufige, in Abständen von 2 -3 Wochen durchgeführte Kurzversuche entsprechen also einem Dauerversuch bei der Ratte.

Nur der Hund schien zunächst eine Ausnahme zu machen. Bei ihm führt die fortlaufende Verabreichung des Hormons schon nach kurzer Zeit zur völligen Knochenmarksinsuffizienz. Aber auch bei diesem Tier sind Anzeichen der Regeneration aller Blutzellen vorhanden. Die Zeichen einer länger anhaltenden Gewöhnung betreffen vor allem das rote Blutbild, aber auch die Thrombocyten, die Blutungs- und Gerinnungszeit zeigen Remissionen (vgl. Holtz und Mitarbeiter). Der Hund unterscheidet sich also nur hinsichtlich seiner Empfindlichkeit, d. h. des früheren Eintretens des Vergiftungsbildes von der Ratte, vom Kaninchen und vom Menschen.

Der Mensch besitzt hohe Regulationsmöglichkeiten gegen die künstliche Zufuhr sowohl stimulierender als auch hemmender Mengen von weiblichem Sexualhormon. Die Verhältnisse gleichen etwa denen der Ratte und des Kaninchens. Umgekehrt kann aber auch bei ihm unter besonderen Bedingungen die Schranke durchbrochen werden und eine schwere vorübergehende, vielleicht auch dauernde Knochenmarksinsuffizienz derselben Art wie beim Hund in Erscheinung treten. Dies zeigen eindeutig die von Bockelmann und Grumbrecht beschriebenen Fälle. Diese Tatsache ist von größter Bedeutung nicht nur für die therapeutische Anwendung des Follikelhormons, sondern auch für die Ätiologie der beim Menschen bekannten, von den Keimdrüsen ausgehenden Blutbildungsstörungen.

Worin die Gewöhnung des Organismus gegen höhere Follikelhormondosen besteht, kann heute noch nicht gesagt werden. Die Beeinflußbarkeit des Vergiftungsbildes durch hohe Dosen von Leberextrakten (Campolon) spricht für eine Entgiftung des zugeführten Hormons. Die Frage, ob beim Hund die Ursache der höheren Empfindlichkeit darauf beruht, daß bei ihm die Entgiftungsfähigkeit der Leber geringer ist als bei Ratte, Kaninchen und Mensch, bleibt noch offen. Die mildernde Wirkung des Eisens geht wohl auf eine direkte Reizung des Knochenmarks, wie wir sie nach Eisenzufuhr bei gewöhnlichen sekundären Anämien sehen, zurück.

Wie unsere Kastrationsversuche beweisen, gibt es aber auch eine Gewöhnung an die Unterfunktion bzw. den Wegfall der Ovarien. Einige Wochen nach der Kastration ist die Anämie verschwunden und der Organismus hat sich scheinbar an den veränderten Zustand angeglichen. Es besteht jedoch, wie beschrieben wurde, noch eine latente Knochenmarksinsuffizienz gegenüber Belastungen. Die Gewöhnung an den Wegfall des Ovars ist uns gleichermaßen von den verschiedensten Tierarten wie auch vom Menschen bekannt.

Zusammenfassung.

1. Während des Oestrus der Ratte ist die Zahl der roten Blutkörperchen regelmäßig vermehrt.

2. Durch Unterteilung in zahlreiche Einzelinjektionen, welche innerhalb eines kurzen Zeitraums verabfolgt werden, gelingt es, mit physiologischen Mengen von Follikelhormon bei der normalen weiblichen und der schwangeren Ratte, beim normalen weiblichen Kaninchen, Hund und Mensch eine vorübergehende Vermehrung der Erythrocytenzahl und des Hämoglobins zu erzielen.

3. Aus diesen Versuchen wird auf eine stimulierende Wirkung des weiblichen Sexualhormons auf die Erythropöese und die Blutfarbstoffbildung geschlossen.

4. Die Erhöhung der stimulierenden Dosis auf das 2—3fache erzeugt unter denselben Bedingungen bei denselben Versuchsobjekten eine vor

übergehende Anämie mit gleichzeitigen Veränderungen des weißen Blutbildes, der Thrombocytenzahl sowie der Blutungs- und Gerinnungszeit im Sinne einer beginnenden Knochenmarkshemmung.

5. Am kastrierten Tier ist mit kleinen Mengen von Follikelhormon nur selten eine Reizung des Knochenmarks zu erzielen. Umgekehrt tritt nach höheren Dosen die Erholung von der Anämie erst nach längerer Zeit als bei normalen Tieren ein. Diese Vorgänge beruhen auf einer latenten Knochenmarksinsuffizienz bei Tieren, welche seit mehr als 1 Monat kastriert sind.

6. Die Ergebnisse der Dauerversuche mit hohen Dosen von Follikelhormon an der Ratte (Grumbrecht) und am Hund (Holtz und Mitarbeiter) werden bestätigt. Große Mengen von Eisen und Leber mildern das Vergiftungsbild und verhindern den Tod der Tiere, wenn sie gleichzeitig mit dem Hormon gegeben werden.

7. Ein Vergleich der Kurz- und Dauerversuche an der Ratte, am Kaninchen, Hund und Mensch ergibt, daß die Wirkung des Follikelhormons proportional mit der Größe der Dosis, der Zahl der Einzelinjektionen, auf welche die Dosis verteilt wird, und umgekehrt proportional mit der Größe der Abstände zwischen den einzelnen Injektionen ansteigt. Daraus ergeben sich wichtige Folgerungen für die Therapie.

8. Die Kastration von weiblichen Ratten und Kaninchen führt zu Anämien, die sich nach einiger Zeit wieder ausgleichen und in kompensatorische Polyglobulien übergehen. Trotz der kompensatorischen Erythrocytose besteht bei diesen Tieren aber nach der Kastration noch eine latente Knochenmarksinsuffizienz (5). Diese und das Auftreten von Kastrationsanämien überhaupt bestätigen den stimulierenden Einfluß des Follikelhormons auf das Knochenmark (3).

9. Bei Ratten, Kaninchen, Hunden und auch beim Menschen sind Anzeichen einer Gewöhnung an die stimulierenden und hemmenden Wirkungen künstlich zugeführten oder pathologisch vermehrten Follikelhormons auf das Knochenmark zu bemerken. Sie sind beim Hund am geringsten ausgebildet. Außerdem besteht eine weitgehende Gewöhnung an den Wegfall des Hormons nach der Kastration. Diese Gewöhnung ist aber nicht vollständig (5).

COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB7